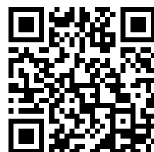
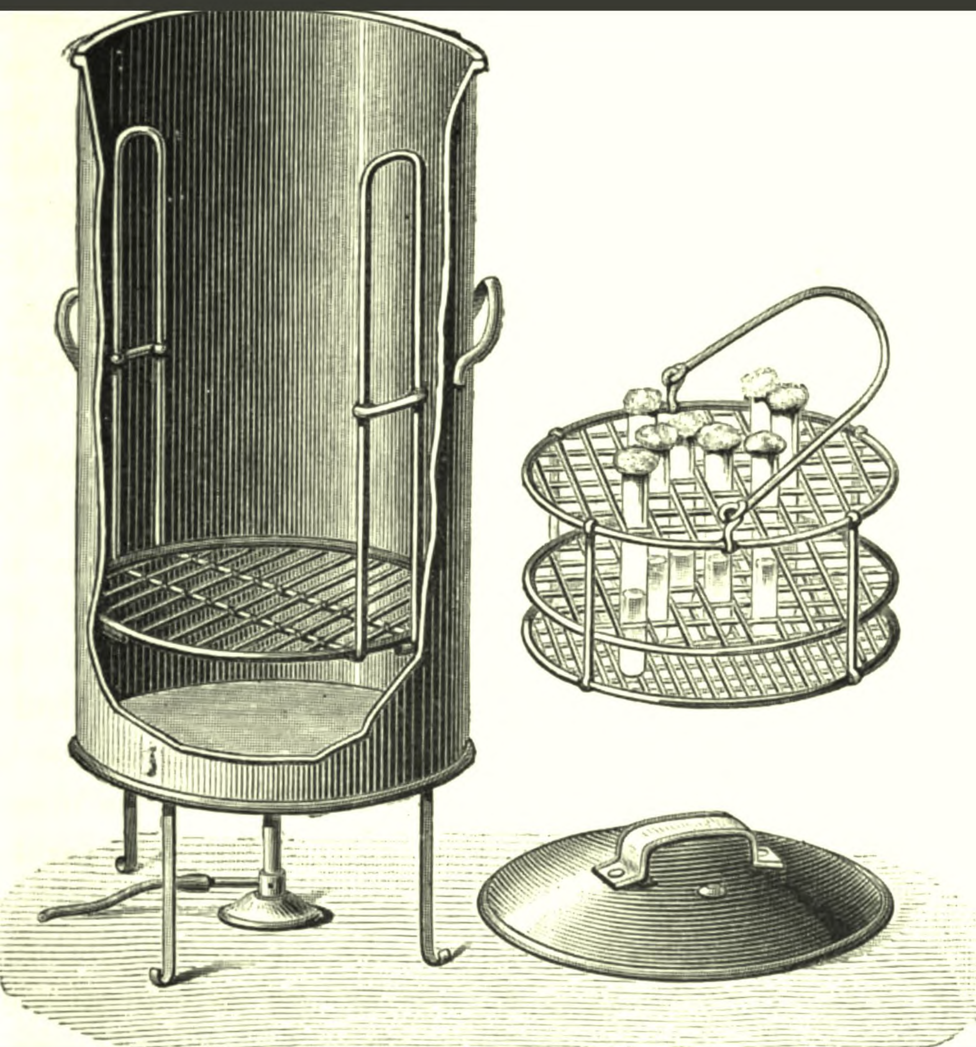




Examen químico y bacteriológico de las aguas ...

A. E. Salazar, C. Newman, Raphaël Blanchard


SIGILLUM ACADEMIAE HARVARDIANAE IN NOV ANG
CHRISTO ET ECCLESIAE
VE RI TAS



EXAMEN QUÍMICO Y BACTERIOLÓGICO

DE LAS

AGUAS POTABLES

Hommage des auteurs

EXAMEN

QUÍMICO Y BACTERIOLÓGICO

DE LAS

AGUAS POTABLES

POR

A. E. SALAZAR Y C. NEWMAN

CON UN CAPÍTULO DEL

DR. RAFAEL BLANCHARD

PROFESOR AGREGADO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE PARÍS; SECRETARIO GENERAL DE LA SOCIEDAD ZOOLÓGICA DE FRANCIA

SOBRE

LOS ANIMALES PARÁSITOS INTRODUCIDOS POR EL AGUA EN EL ORGANISMO

OBRA ILUSTRADA CON 127 GRABADOS, 16 FOTOMICROGRAFÍAS Y 5 FOTOGRAMAS DE CULTIVOS

LONDRES: BURNS & OATES

1890

Mrs. Pattons

BURNS AND OATES, LD., PRINTERS, LONDON.

PREFACIO.



Descritos y discutidos conforme á plan sistemático preséntanse en este libro los resultados de un estudio higiénico de las aguas de Valparaíso, llevado á cabo en este Laboratorio durante los años 1887-88. Su publicación obedece al doble propósito de ofrecer indicaciones prácticas para investigaciones del mismo género que puedan emprenderse en otras partes del país, y datos que no carecerán de utilidad á las personas que necesiten formarse cabal concepto acerca de una cuestión higiénica de general interés, hoy que se trata de dotar con buena agua potable á todas las poblaciones de Chile que carecen de ella.

Reciente visita á los principales laboratorios europeos ha sido de gran provecho al intento de los autores: los cuales, por lo mismo expresan su vivo reconocimiento á los jefes y ayudantes de esos centros de estudios, y especialmente al Dr. Miquel, jefe del servicio micrográfico del Laboratorio de Montsouris; al Dr. Ferrán, director del Laboratorio Microbiológico de Barcelona; al Prof. Emmerich, del Instituto Higiénico de Münich; al Dr

Kowalsky, de Viena; al Prof. Fodor, del Instituto Higiénico de Budapest; y al Dr. C. Fraenkel, del Instituto Higiénico de Berlín.

Con respecto á la forma dada al presente trabajo, necesaria es una breve explicación. En primer lugar, la mira de los autores ha sido *sugerir* antes que *describir*, haciendo al efecto indicaciones generales y señalando las mejores fuentes de referencia para cada punto de los que con el estudio de las aguas se relacionan. En segundo lugar, han juzgado necesario acompañar ciertas descripciones, ya sea de métodos, ya de aparatos ó instrumentos, con una explicación razonada ó razonable de los principios en que unos ú otros se fundan, y cuyo conocimiento no puede menos que ser de innegable utilidad para la investigación.

Por último, no pueden los autores terminar esta advertencia preliminar sin dar públicas gracias al Prof. Zegers de la Universidad de Chile, por su eficaz ayuda para llevar a buen término el estudio referido, así como también al señor don Manuel A. Délano, antiguo alumno de la Escuela Naval, por su empeñosa contracción para corregir las pruebas, y verificar los datos numéricos contenidos en este libro.

LABORATORIO DE LA ESCUELA NAVAL,
Valparaíso, 1890.

CONTENIDO.



CAPÍTULO III.

CAPÍTULO IV.

CAPÍTULO V.

CAPÍTULO VI.

SEGUNDA PARTE.

Examen Orgánico.

CAPÍTULO VII.

CAPÍTULO VIII.

CAPÍTULO IX.

TERCERA PARTE.

EXAMEN BACTERIOLÓGICO.

CAPÍTULO X.

CAPÍTULO XI.

CAPÍTULO XII.

CAPÍTULO XIII.

APÉNDICE.

LISTA DE LAS ILUSTRACIONES.

GRABADOS.

PLANCHAS

PLANCHA

I. *Bacilo tífico.*

Fig. 1. (× 800), preparación de cultivo nuevo en jaletina.
„ 2. (id.), id. cultivo en papa, de 2 días.
„ 3. (id.), id. id. de 4 dias.
„ 4. (id.), id. cultivo viejo en jaletina.

II. *Espirilo del cólera asiático.*

Fig. 1. (× 600), preparación de cultivo en jaletina alcalinizada.
„ 2. (× 500), id. de cultivo en jaletina dura acídula.
„ 3. (× 600), otra parte de la preparación anterior.
„ 4. (id.), otra preparación del mismo cultivo.

III. *Bacilos encorvados* del Pozo Colón (Valparaíso).

Fig. 1. (× 600), preparación de un cultivo en jaletina.
„ 2. (id.), id. teñida con fucsina, de otro cultivo.
„ 3. (id.), id. del mismo cultivo que la primera.
„ 4. (× 700), misma preparación primera, fotografiada después de 10 días.

IV. *Bacilo subtil*, de agua de El Salto.

Fig. 1. (× 500), preparación de colonia brotada en jaletina.
„ 2. (id.), otra parte de la misma preparación.

V. *Bacilos rectos*, de agua de acequia de Santiago.

Fig. 1. (× 550), preparación de colonia brotada en jaletina.
„ 2. (× 800), otra parte de la misma preparación.

VI. *Inoculaciones en forma de raya ó estría, sobre jaletina* (Fotografía).

Fig 1. De un cultivo tífico en papa.
„ 2. De colonia en jaletina, semejante á las tíficas.

VII. *Plancha de cultivo.* (Fotografía). Agua de El Salto.

VIII. id. (id.). „ de Jaime.

IX. id. (id.). „ de Quebrada Ve de.

DESCRIPCIÓN DE LAS PLANCHAS.

PLANCHA I.

FIG. 1. Bacilo tífico* (× 800), preparación teñida con fucsina; de un cultivo nuevo en jaletina ligeramente alcalinizada.

FIG. 2. Bacilo tífico (× 800), preparación débilmente teñida con amarillo de Bismarck; de un cultivo de 2 días (á 37°) en papa.

FIG. 3. Bacilo tífico (× 800), otra preparación con el mismo cultivo después de 4 días. Formación de seudo esporas en las extremidades.

FIG. 4. Bacilo tífico (× 800), preparación débilmente teñida con amarillo de Bismarck, de un viejo cultivo en jaletina.

Todas estas fotomicrografías, así como las de las planchas restantes, han sido obtenidas con un objetivo Verick (inm. hom.) de 1·8 mm., usado con una A. N. inferior á 1.

Las tres primeras preparaciones fueron pasadas por la llama y después teñidas y montadas húmedas. La última (Fig. 4) es una preparación teñida por el método rápido, sin pasarla por la llama.

Ninguno de los caracteres morfológicos indicados es peculiar del B. tífico. La vacuolación (Fig. 2) preséntanla otros bacilos semejantes, p. ej., el bacilo G. de Buchner.

PLANCHA II.

FIG. 1. Espirilo del cólera asiático (× 600), preparación teñida con morado de metilo; de un cultivo nuevo en jaletina alcalinizada.

FIG. 2. Espirilo del cólera asiático (× 500), preparación teñida por el método rápido (sin pasar por la llama) con morado de metilo; de un cultivo de 36 h. (á 27°) en jaletina dura, acídula.

FIG. 3. Espirilo del cólera asiático (× 600), otra parte de la preparación anterior.

FIG. 4. Espirilo del cólera asiático (× 600), otra preparación análoga del mismo cultivo.

(Véase, p. 302.)

* Aislado, en jaletina fenolizada, de las deyecciones de un tífico del Hospital Alemán de Valparaíso. El enfermo (caso grave), atendido por el Dr. Page, hallábase desde un principio sometido á rigorosa dieta. Estos antecedentes, en unión de la prueba de la papa, verificada plenamente por medio de numerosas reinoculaciones, nos mueven á considerar los organismos representados como los verdaderos bacilos de Eberth.

PLANCHA III.

FIG. 1. Bacilos encorvados (× 600) del agua del Pozo Colón (Valparaíso), preparación teñida con amarillo de Bismarck, montada húmeda; de un cultivo en jaletina. (Colonia sólida.)

FIG. 2. Bacilos encorvados (× 600) de agua del mismo pozo, preparación teñida con fucsina; de un cultivo en jaletina. (Colonia sólida.)

FIG. 3. Bacilos encorvados (× 600), de otra preparación análoga á la primera (Fig. 1).

FIG. 4. Bacilos encorvados (× 700), misma preparación de la Fig. 1, fotografiada despues de 10 días. Los bacilos aglomerados al borde de una burbuja de aire.

PLANCHA IV.

FIG. 1. Bacilo subtil (× 500), preparación teñida con amarillo de Bismarck; de Colonia brotada en siembra hecha con agua de El Salto.

FIG. 2. Otra parte de la misma preparación.

Este microorganismo ó especies semejantes son muy comunes en el aire; lo son tambien en las aguas de algunas quebradas de Valparaíso.

PLANCHA V.

FIG. 1. Bacilos rectos inmóviles (× 550) brotados en siembra con agua de acequia de Santiago; preparación débilmente teñida con amarillo de Bismarck. Colonia sólida.

FIG. 2. Otra parte (× 800) de la misma preparación.

PLANCHA VI.

FIG. 1. Reinoculación en forma de estría, de cultivo tífico en papa, sobre jaletina. Fotografiada al cabo de 10 días de crecimiento á la temperatura media de 17°.

Fig. 2. Reinoculación, hecha simultáneamente con la anterior, de una colonia aislada de las deyecciones de que se hizo mención en la nota de la Plancha I., muy semejante á las tíficas en la gelatina nutritiva, pero que en la papa producía un cultivo amarillento, de olor fétido.

PLANCHA VII.

Colonias en un tercio de 0·5 cc. de agua de El Salto sembrada 24 h. después de tomada de la cañería. Las siembras hechas inmediatamente

de recogida la muestra sólo producían de 25 á 30 colonias en jaletina (*Véase*, p. 209).

Plancha de cultivo fotografiada después de 3 días de incubación á la temperatura media de 20°.

Plancha VIII.

Colonias en un tercio de 0·5 cc. de agua de la Quebrada de Jaime (Valparaíso, mayo de 1887).

Plancha de cultivo fotografiada al cabo de 3 días de incubación á la temperatura media de 17°.

Plancha IX.

Colonias en un tercio de 0·2 cc. de agua del Pozo Colón (Valparaíso, octubre de 1887).

Plancha de cultivo fotografiada después de sólo 2 días de incubación á la temperatura media de 17°. Las colonias hicíronse confluentes antes de las 36 h.

EXAMEN QUÍMICO Y BACTERIOLÓGICO

DE LAS

AGUAS POTABLES

INTRODUCCIÓN.

SI el agua químicamente pura, el H_2O de los químicos, no existe en la naturaleza, fuera inconsecuencia hablar de la "pureza irreprochable" de las aguas destinadas á la bebida, á no tener esa expresión figurativa por único objeto el precisar un orden particular de ideas sobre las cualidades que debe poseer un elemento de tan principal importancia para la economía. En realidad, lo que antes se ha buscado más bien por una especie de instinto y que ahora á la luz de conocimientos harto recientes se exige por convicción, no es según el dicho concepto la pureza química de las aguas, sino su limpieza absoluta con respecto á cualquier linaje de contaminación. I, tratándose de la salud pública, tan severas han llegado á ser las miras actuales sobre este particular que, en obediencia á un sabio y conocido precepto higiénico se exige, no ya que el agua pueda ser pura, sino que, como la mujer de César, debe hallarse aún por encima de toda sospecha.

Prescindiendo de los hechos tan decidores puestos en evidencia gracias á la moderna teoría microbiana, existen otros de un carácter demostrativo menos directo, pero tan concluyentes que bastarían por sí solos á

justificar rigorismo semejante. Comprueba, por ejemplo, la estadística en los países hoy á vanguardia de la civilización, que el alcance medio de la vida humana ha venido en aumento progresivo de un siglo á esta parte, merced exclusivamente á las grandes medidas de saneamiento cuya aplicación razonada constituye la nueva ciencia de la Higiene. Ahora bien, imposible sería desconocer que de entre ellas pocas han sido tan eficaces para la consecución de beneficio tal, como la de haber asegurado á las poblaciones un amplio abastecimiento de agua de calidad intachable. No es menester fijar con datos numéricos el alcance de una medida de esa naturaleza, para apreciar toda la influencia que ha ejercido y está llamada á ejercer permanentemente en las condiciones sanitarias de una localidad habitada; ni para deducir consecuencias útiles se necesita de casos concretos que comprueben directa y aisladamente el efecto pernicioso de las aguas impuras sobre la salud del individuo: lo primero, sobre ser innecesario demandaría investigación laboriosa, al paso que lo último cede en importancia á resultados generales de mayor valor, aunque escapen á la comprobación inmediata.*

* El único documento estadístico relacionado con este punto, que hemos encontrado, es la siguiente tabla de la memoria de la *Rivers Pollution Commission* de la Gran Bretaña (1874):

LONDRES.

Año.	Carácter del agua.	Mortalidad.	Proporción por 10,000.
1832	Contaminada, - - - -	5275	31·4
1849	Muy contaminada, - - -	14137	61·8
1854	Menos contaminada, - -	10738	42·9
1866	Mucho menos contaminada, -	5596	18·4

Es cierto que agenas causas pueden contrarestar en mucho acción tan benéfica y aún sobrepujarla y hacer, como en Valparaíso en estos últimos tiempos, de una ciudad no muy mal dotada de agua en cuanto á calidad, una de las peormente colocadas en la estadística de la mortalidad de las grandes ciudades (más de 50 por mil !) Pero siempre quedará en pié la verdad enunciada, y en prueba de ello basta parar mientes en cuánto más funestos serían los resultados si á las otras condiciones antihigiénicas causantes del mal, se uniese la del empleo forzoso de un agua impura.

Mejorar, y siempre mejorar ramo tan importante de los servicios públicos como es la provisión de agua, ha sido uno de los mayores afanes de los referidos países, principalmente en lo que va corrido de este siglo. Compruébanlo, así lo cuantioso de los gastos materiales hechos por parte de gobiernos ó de compañías privadas, como la suma increible de investigación científica traída por sabios eminentes al esclarecimiento del problema que atañe á la calidad de ese líquido. Porque, reconocida en todo tiempo relación tan íntima entre la salud pública y el carácter de las aguas usadas para la bebida, una de las preocupaciones más constantes ha sido esclarecer esa relación y determinar ese carácter, aplicando los métodos de investigación conocidos en cada época.

Exponer sumaria y cronológicamente los ideados hasta aquí con ese objeto; discutir ligeramente sus cualidades y sus deméritos; justificar la elección de los que en este libro se describen; llegar en fin á conclusiones generales sobre la mejor forma en que debe practicarse el análisis, ó más bien examen de las aguas: tal es el propósito de las líneas que siguen.

Observaciones sobre los métodos primitivos.—Hasta tiempos relativamente muy recientes han debido los hombres vivir en mucha ignorancia acerca de los medios conducentes á demostrar en el agua potable la presencia de sustancias de dañosa naturaleza. Faltos de los métodos analíticos de la química, ciencia moderna, podían sólo guiarse por el aspecto, por los caracteres físicos de ese elemento base de la alimentación; es decir, por la mera apreciación de los sentidos, ayudada de esa suerte de instinto adivinatorio, de que hablamos al principio, para rechazar hasta la sombra siquiera de una contaminación peligrosa. A más de clara, fresca, bien aerada, de buen sabor y apta para la cocción de los alimentos, debía el agua incitar á la bebida: convengamos en que como regla general no se puede expresar en mejores y más breves términos el conjunto de caracteres que este líquido debe poseer cuando está destinado á servir para la bebida del hombre. Desde los tiempos de Hipócrates, autoridad siempre citada cuando se trata de este asunto, puede decirse que tal ha sido la regla única para juzgar de la bondad de las aguas usadas para fines domésticos. Mas, por otra parte, qué de veces criterio semejante ha sido criterio engañoso y funesto.

Pasando desde luego á exponer sucintamente los diversos métodos de investigación, diremos que el análisis mineral completo y minucioso fué durante muchos años el guía principal, cuando no el único, que sirvió para resolver, aparte de las indicaciones dadas por los caracteres físicos, si una agua era buena ó impropia para la bebida. Por lo menos en Chile, siempre que se ha tratado de asunto tan capital, los documentos que han hecho fe han sido casi exclusivamente de ese

carácter; y gracias á ellos sabemos con toda exactitud la cantidad de cloruro de sodio, la proporción de sales cálcicas y hasta la muy mínima de otras sustancias minerales que hay en las aguas que forman la provisión principal de nuestras dos primeras ciudades. En Europa, y principalmente en Inglaterra donde especialistas eminentes como Frankland, Wanklyn, Tidy, Dupré y tantos otros han dedicado labor inmensa al estudio de las aguas de alimentación, el análisis mineral ha quedado desde hace mucho tiempo relegado al término que le corresponde. Toda la atención de los investigadores se dedicó hasta ha muy poco, al perfeccionamiento de los métodos para determinar la naturaleza y proporción de la sustancia orgánica contenida en el agua. Sábese hoy día que tampoco este camino conduce á la solución definitiva del problema, aunque nuevos métodos de investigación química permitiesen más tarde descubrir hasta la última partícula de esa materia y la naturaleza exacta de su composición ó de su origen. Sólo cuando el estudio bacteriológico, que en su forma embrionaria arroja ya muchísima luz, descanse sobre métodos precisos, rápidos y seguros, podrá la ciencia gloriarse de haber resuelto práctica y definitivamente uno de los problemas más arduos entre los que han traido preocupada la atención de los higienistas en toda epoca. Por de pronto, y para no citar sino un sólo ejemplo, el descubrimiento del bacilo de Eberth en ciertas aguas, descubrimiento que ha venido á esclarecer uno de los puntos más importantes de cuantos á la etiología de la fiebre tifoidea se refieren, nos demuestra sobradamente cuánto puede esperarse de la investigación á que hemos hecho referencia, y sobre la cual volveremos más adelante.

Método de Clark.—Fuera de estas observaciones acerca del análisis general, y antes de pasar en revista comparativa los diversos procedimientos especiales dedicados actualmente á la determinación de la materia orgánica, tendremos que decir algunas cuantas palabras sobre el ensaye tan conocido como utilísimo, mediante el cual se pueden averiguar ciertas propiedades del agua; las que se refieren á su dureza ó sea á la proporción de sales cálcicas y magnésicas en aquella disueltas. No necesitamos agregar, casi, que se trata del ensaye fundado en la descomposición del jabón por esas sales, tal cual se describe en el CAPÍTULO III. de la PARTE I. Ideado por el Dr. Clark en Inglaterra, en 1847, ha experimentado posteriormente modificaciones de detalle; y aún algunos químicos han tratado de hacer de él, sin éxito del todo lisonjero, algo como un sistema de análisis completo de los sólidos minerales contenidos en las aguas. Nicholson en Inglaterra, y sobre todo Boutron y Boudet en Francia han obtenido tal vez los resultados más satisfactorios á ese respecto.

Según puede colegirse de lo dicho, el ensaye hidrotimétrico (que tal es el nombre con que los dos últimos químicos nombrados han denominado al primitivo método de Clark por ellos modificado) bien poca importancia tiene como medio de dilucidar el punto de más trascendencia relativo á las aguas potables: el de si estas encierran ó no gérmenes considerados nocivos de acuerdo con la teoría parasitaria actualmente aceptada por el mundo científico. Ni siquiera la presencia de la sustancia orgánica es dado determinar con ayuda del ensaye hidrotimétrico, fecundo en recursos solamente por lo que toca á la determinación de la cal y de la magnesia. Bien es cierto que en este

sentido no tiene igual como sencillez, sobre todo con referencia á las sales de magnesia, á parte de su exactitud, digna de los métodos analíticos de mucha mayor complicación que podrían usarse con el mismo fin.

La importancia que al método de Clark corresponde en la práctica diaria del examen de las aguas potables es muy inferior, por cierto, á la que tiene en caso de tratarse de ciertos usos industriales del agua. Debemos agregar, eso sí, en abono de los servicios que puede prestar el método, tomando la cuestión desde el punto de vista sanitario, que ha existido siempre una marcada tendencia á considerar las aguas de relativa dureza como más salubres que otras demasiado blandas; esto, prescindiendo de la utilidad atribuida con ó sin razón á la cal existente en ellas, para el desarrollo del organismo, y teniendo sólo en vista que son menos orgánicamente impuras.

Método de la incineración.—No hace todavía un cuarto de siglo recurríase casi exclusivamente al procedimiento de incinerar el residuo dejado por la evaporación, como medio de determinar la impureza orgánica del agua. El cual procedimiento consistía en evaporar á sequedad en cápsula de platino una cantidad definida de la muestra de agua; en pesar el residuo para conocer así la cantidad total de sólidos que había disueltos; y en determinar, seguidamente, la materia orgánica volátil, teniendo en cuenta la corrección necesaria debida á la pérdida inevitable de CO_2 de los carbonatos. Terminábase la operación con el análisis completo del residuo definitivo.

Por lo que toca á la última parte el procedimiento es científico, si bien de escasa utilidad práctica; y en

cuanto á la incineración del residuo, muy poca cosa vale como medio para averiguar siquiera aproximadamente el carácter de la materia orgánica. Explícase el empleo único de este sistema de análisis ó de examen de las aguas hasta la época indicada, sólo por ser entonces desconocidos los métodos de la oxidación, del amoníaco, etc., que si no perfectos ni mucho menos, son con todo más racionales y mejor combinados que el muy elemental descrito.

Método de la oxidación.—El ensaye por el permanganato de potasio es de todos los que siguieron al de la incineración el más antiguo, y fué sugerido por Forchhammer, de Copenhague, allá por el año 1850. En su misma primitiva forma llegó á ser de cierto uso entre los químicos, y cuando aún no se conocían sus perfeccionamientos, ni el método del amoníaco de Wanklyn, Chapman y Smith, ni tampoco el laboriosísimo de Frankland y Armstrong, todos discutidos en seguida.

Sabemos que la sal nombrada, vulgarmente designada además bajo el nombre de camaleón mineral, comunica un color rosa á sus disoluciones débiles en agua; y sabemos también que por el hecho de encerrar gran cantidad de oxígeno, fácil de absorber por la materia orgánica, es descompuesto, perdiendo á la vez su coloración característica: de ahí, entonces, un medio rápido y simple para determinar, si no la naturaleza, por lo menos y hasta cierto punto la proporción en que esa materia se halla presente.

Sin embargo, á pesar de las variantes y mejoras que se han venido introduciendo en el modo de aplicar el procedimiento, siempre quedan en pié objeciones muy serias contra la importancia de sus resultados, y son: 1º, que en igualdad de peso diferentes clases de sus-

tancias orgánicas requieren para oxidarse diferentes cantidades de oxígeno; 2ª, que en algunos casos la oxidación es completa y en otros solamente parcial; y, 3ª, que aún el tiempo requerido para la acción del permanganato sobre la materia orgánica es variable en cada caso.

Agréguese á todo esto, y como una nueva causa de error, que el permanganato es susceptible de reducción no tan sólo en presencia ó contacto de la sustancia orgánica, sino también de otros compuestos inorgánicos que pueden hallarse presentes en el agua ensayada, á menos de recurrir á operaciones previas para eliminar esos compuestos, lo que complica el procedimiento. Todos los basados en la reducción de los permanganatos, cual más cual menos, adolecen de los mismos inconvenientes; todos caen bajo la objeción más seria, si cabe, de su poca ó ninguna eficacia para revelar el origen animal ó vegetal de esa sustancia, punto en que viene á resumirse principalmente la cuestión.

Posee, á pesar de todo este ensaye, cualidades de cierta valía, y en un tiempo, aún, llegó á creerse que el monto de la materia capaz de experimentar descomposición pútrida podría deducirse de la cantidad de permanganato destruido durante los primeros minutos de la reacción, en el supuesto de que dicha materia sea la primera en oxidarse.

Miller, Kubel, Meymott Tidy, Letheby, Schulze y otros químicos han imaginado sendos métodos especiales para utilizar del modo más satisfactorio la acción oxidante del permanganato. Limitámonos en este libro á la descripción de tres de ellos, que en realidad se reducen á dos maneras de emplear el permanganato: en disolución ácida y en disolución alcalina, de cuya

comparación de resultados se deducen más útiles consecuencias que de las cifras muy precisas que pudieran obtenerse de cada manera aislada.

Método del amoníaco.—El procedimiento del amoníaco, de Wanklyn, Chapman, y Smith, que se hallará descrito detalladamente en la PARTE II., ha sido aplicado por nosotros constantemente en los dos últimos años (en especial á las aguas de Valparaíso) en unión con la prueba bacteriológica y la prueba por la oxidación. Sabido es que método alguno encontró más pronto favor entre los analizadares, lo que indudablemente es debido á la relativa facilidad de su aplicación, y á la delicadeza de sus indicaciones; sabido es también que ninguno ha sido objeto de ataques más rudos, principalmente de parte de los sostenedores del método rival, de Frankland y Armstrong. Durante más de veinte años (Fué en 1867 cuando Wanklyn dió á conocer su procedimiento) la controversia sostenida por ambos bandos tuvo un carácter de permanente interés . . . y de acritud, todo para llegar á ninguna consecuencia verdaderamente de utilidad práctica desde el punto de vista higiénico. Hoy dia la cuestión ha perdido su importancia en virtud del nuevo rumbo dado á la investigación por la teoría de los gérmenes: *el examen orgánico, así como el mineral, no son al presente sino métodos auxiliares, cualesquiera que sean los diversos modos de aplicarlos al estudio de las aguas potables.*

Wanklyn y allegados pretenden distinguir por este método la materia orgánica nitrogenada fácilmente putrefactible, de otras sustancias también orgánicas pero de más difícil descomposición y conversión en amoníaco; en otros términos, distinguir entre la contaminación del agua por productos animales, y la

originada por sustancias vegetales. Pero, como iguales pesos de diferentes cuerpos nitrogenados producen en las mismas condiciones desiguales cantidades de amoníaco,* y como además la conversión es á veces insignificante, á veces más completa, de aquí las mismas causas de error, las mismas incertidumbres que en la oxidación por el permanganato. Por cuyo motivo, y á pesar de la suma delicadeza del método (pues permite patentizar una parte, *v. gr.*, de albumen, gelatina ó álcali orgánico en diez millones de veces su peso de agua), Frankland lo rechaza terminantemente; Meymott Tidy lo considera bueno sólo para distinguir un agua de calidad excelente de otra excesivamente mala; y el Profesor Mallet de la Universidad de Virginia cree que es realmente sencillo y de fácil aplicación, pero que la importancia de los resultados debe buscarse antes bien en la forma en que se produce la evolución del amoníaco que en los datos numéricos obtenidos. Autores de métodos rivales los dos primeros químicos nombrados, bien pudieran sus opiniones hallarse influenciadas por inevitable espíritu de parcialidad; y en cuanto á la observación del Prof. Mallet, sin negar la importancia que pueda tener, diremos sencillamente por nuestra parte que los conocimientos más útiles acerca de la calidad de las aguas, como pureza orgánica, se deducirán de las relativas proporciones de amoníaco libre y de amoníaco albuminóideo reveladas por el examen; y con el ausilio, por cierto, de la determinación de los cloruros y nitratos.

Cualesquiera que sean las objeciones al método de Wanklyn, no son, á pesar de todo, más serias que las

* Wanklyn denomina el amoníaco así obtenido "amoníaco albuminóideo," á causa de su origen.

hechas á los dos otros procedimientos capaces de compararsele como resultado general en la aplicación sistemática del ensaye orgánico de las aguas potables. Adviértase que tratamos el asunto con sujeción á las doctrinas actuales, es decir, no dando al análisis orgánico más importancia que la debida á un medio indirecto de llegar al fin que se persigue; ni á sus resultados numéricos ó cualitativos, más alcance que al de meros índices que permiten inferir el mayor ó menor grado de impurificación par sustancia de naturaleza excrementicia.

En este carácter posee el método del amoníaco suma de cualidades que lo colocan en primera línea entre los que, junto con la determinación del cloro, de los nitratos y la investigación bacteriológica son al presente indispensables para el estudio de las aguas. En verdad, acaso, el método de Frankland discutido á continuación se halla más científicamente combinado para establecer inferencias, pero ¿no dista, después de todo, tanto como el anterior de cualquier resultado definitivo, por lo mismo que el análisis químico más refinado es impotente para revelar la presencia de los microorganismos que pululan ó pueden pulular en las aguas?

Método de la combustión.—El procedimiento de la combustión, á que acabamos de aludir, fué dado á conocer por sus autores, Frankland y Armstrong, poco después de anunciado el anteriormente discutido. Tiene la particularidad, fuera de ser el método de más laborioso aplicación, de haber servido desde su origen á la Comisión de Aguas de la Gran Bretaña (Rivers Pollution Commission) para el examen de sinnúmero de muestras.

Consiste en evaporar una cantidad determinada de

agua, previa separación (por tratamiento con una disolución saturada de ácido sulfuroso) de todo el carbono y el nitrógeno que pueda existir en el agua en forma inorgánica (menos el nitrógeno correspondiente al amoníaco): de este modo son reducidos con expulsión de su nitrógeno, los nitratos y nitritos, y descompuestos los carbonatos con expulsión de su CO_2. El nitrógeno del amoníaco se deduce del cómputo final. Sométese en seguida el residuo obtenido á un análisis orgánico completo, quemando el carbono para que se transforme en anhídrido carbónico y quede en libertad el nitrógeno. Finalmente, analízase con cuidado, por el método volumétrico, la mezcla gaseosa proveniente de todas las operaciones indicadas, y el resultado definitivo se expresa en partes de carbono y nitrógeno orgánicos por 100,000 de agua.

Supone Frankland* que la proporción relativa del C al N revelada por el análisis último de la materia orgánica del agua es dato suficiente para determinar el carácter de dicha materia: si animal ó vegetal; llegando á la conclusión de que mientras más grande es la proporción del carbono orgánico al nitrógeno orgánico, mejor es la calidad del agua. De sus investigaciones deduce que la proporción es:

	C : N	
Para aguas de alturas ó montañas	4 : 1	mínima
	10 : 1	media
	21 : 1	máxima
,, aguas de superficies	3 : 1	mínima
	2 : 1	máxima

* *Water analysis for sanitary purposes, with hints for the interpretation of results.*—John van Voorst, London, 1880 [Pág. 83 y siguientes].

	C N
Para aguas de pozos superficiales	1 : 1 y aún menos 4 : 1 media 9 : 1 máxima
,, aguas de pozos profundos ó de manantial	2 : 1 mínima 6 : 1 media 4 : 1 máxima

&c., &c.

Pero aquí está el punto débil del procedimiento, en cuanto á su alcance cualitativo. Lo apartado de las mismas proporciones extremas indica desde luego la poca fijeza de la base en que deben fundarse las deducciones, razón por que es indispensable tomar en cuenta las circunstancias particulares de localidad, y otros antecedentes que complican la interpretación de las relaciones numéricas apuntadas. Todo esto contribuye poderosamente á dificultar el problema de saber al fin y al cabo cuál es la verdadera naturaleza de la sustancia orgánica presente.

Agreguemos, con respecto ahora al alcance cuantitativo del procedimiento, que muchos de los productos ó principios orgánicos existen en tal condición en el agua que, por el sólo hecho de ser calentados á una temperatura vecina á 100°, se descomponen con desprendimiento de CO_2: por consiguiente, durante la previa evaporación á sequedad, piérdense dichos productos, sin dar lugar á que se tomen en cuenta. Es cierto que se puede obviar tal inconveniente, pero sólo mediante el empleo de un aparato nada sencillo y, lo que es más serio, el sacrificio de *24 á 26 horas* de tiempo, para evaporar el litro de agua que entra en cada ensaye.

En resumen, este método de análisis orgánico, con

ser más laborioso y complicado que los dos métodos anteriores, no da ni puede dar, en rigor de verdad, resultados numéricos ni cualitativos de más utilidad práctica; de suerte que no hay ventaja en su adopción como procedimiento que deba usarse regularmente. Fuera muy diferente la conclusión si el examen químico de las aguas no estuviera antes bien subordinado á la investigación bacteriológica, camino el más directo, aunque todavía dificultoso para llegar al fin apetecido. De lo contrario, considerada la cuestión con criterio verdaderamente científico, por pequeña que fuese la superioridad del método de Frankland sobre los otros debería anteponérseles, no obstante sus dificultades de costo y de manipulación.

Otros métodos.—Fuera del método "actínico" basado en la reducción de las sales de plata por la materia orgánica del agua, bajo la influencia de la luz, y que como los anteriores adolece del mismo género de inconvenientes, debemos hacer mención de dos procedimientos intermedios, que participan hasta cierto punto del examen orgánico y del bacteriológico, sin ser ni lo uno ni lo otro.

Pertenece el primero al finado Dr. Angus Smith, de Manchester, autoridad bien conocida en materia de análisis de las aguas. Expondremos, en pocas palabras, que consiste en agregar azúcar á la muestra de agua que se desea ensayar, con lo cual se provoca luego una activa fermentación que pone en libertad cierta cantidad de hidrógeno. Ahora bien, partiendo del principio que la cantidad de gas así desprendida varía proporcionalmente á la "impureza zimótica" existente en el agua, el autor llegaba á la conclusión de que su método acertaba á medir la suma de

actividad orgánica de los microbios que pueden encontrarse en el agua, ó por lo menos de algunas especies de ellos.

Si el anterior procedimiento permite apreciar la "acción zimótica" por la evolución de hidrógeno, el imaginado por el Dr. Dupré, de Londres (1885), sería su reverso como *modus operandi*, por cuanto se basa en el principio de la medida del oxígeno absorbido por los microbios al cabo de un tiempo dado. Se trata en este caso de una oxidación lenta, muy lenta, de la sustancia orgánica, mediante frecuente agitación del agua, en contacto con una cantidad determinada de aire. Aplicado al agua de Trafalgar Square de Londres, este método reveló un consumo de oxígeno veinte veces mayor que el indicado por el permanganato de potasio. De lo cual y de muchos otros ejemplos análogos, creyóse lógico deducir por algunos que el procedimiento del Dr. Dupré era la última palabra en materia de análisis de las aguas, y más revelador que el método de Koch, poco antes no más dado á conocer en Europa.

Inverso ha sido el resultado, pues la medida exacta del oxígeno absorbido por los microorganismos no nos da la clave para determinar el carácter nocivo ó indiferente de ellos; en tanto que gracias á la cultivación bacteriológica, se puede ya, no citando sino un hecho concreto, descubrir el bacilo de la fiebre tifoidea en las aguas que lo encierran.

Resulta, entonces, de lo dicho acerca de los tres procedimientos que á la ligera hemos expuesto, que tampoco ninguno de ellos puede llevar á resultados precisos y definitivos, y sí, únicamente, á inferencias más ó menos aventuradas en la generalidad de los casos

Toca ahora hablar del estudio microorgánico ó, más propiamente, bacteriológico de las aguas potables.

Método bacteriológico.—Cuando los químicos, los médicos, y los higienistas en general ideaban métodos, excudriñaban causas y compulsaban los resultados de mayor ó menor importancia que se había logrado obtener con los medios de investigación conocidos, sin adelantar gran cosa en la dificilísima cuestión de averiguar el papel desempeñado por las aguas en la propagación de ciertas enfermedades contagiosas; entonces, decimos, era más que una simple hipótesis para esos investigadores la existencia de algún principio viviente, de algún organismo específico como causa y propagador del mal.

Admitíase como hecho irrecusable, por ejemplo, que si se infiltraban las aguas de un pozo con las excreciones de un tífico ó de un colérico, esas aguas quedaban de hecho contaminadas peligrosamente; y creíase, además, que quien de ellas bebiese, enfermaría de tifus ó de cólera, según hubiese sido el caso. Lo indescifrable en absoluto era la naturaleza del agente contagioso. ¿Tratábase de una propiedad morbífica inherente á la materia putrefacta, ó bien de una causa especialísima, de un germen característico en cada circunstancia? Problema fué este que ni la química con todos los sutilísimos recursos de que dispone, ni el microscopio con todo su maravilloso alcance pudieron jamás resolver.

Sin embargo, veíase manifiestamente una relación de causa á efecto de la cual era imposible desentenderse, pues no faltaban ejemplos bien comprobados de que aún masas considerables de agua se hacían mortíferas para el hombre tan sólo por la circunstancia de que en ellas se hubiese arrojado la materia excrementicia de

2

ciertos enfermos, ó lavado siquiera las ropas infectas de los mismos.

Lo cual explícanos el constante rechazo en todo tiempo de las aguas nada más que sospechosas en tal sentido; y explícanos también el empeño de los químicos en la pretensión de llegar con sus métodos al descubrimiento y á la apreciación cuantitativa de la "previa contaminación animal" en las aguas de dudoso carácter sometidas á examen.

La observación micrográfica, por su parte, estuvo revelándonos durante largos años, á más de la materia inerte de los sedimentos, la existencia en las aguas de un mundo de seres invisibles á la simple vista, de las formas y movimientos más caprichosos.* Sin embargo, nunca pudo hallarse relación alguna entre la presencia de estos organismos y la naturaleza infecciosa de las aguas, por más que en muchos casos la infección fuera innegable. "Si (decía Gautier en 1872), de una manera general puede establecerse con certeza que muchas y graves enfermedades se deben á la absorción de microorganismos con las bebidas, hoy por hoy es aún difícil indicar de una manera precisa á qué infusorios debe atribuirse el desarrollo de tales ó cuales afecciones especificas." †

* J. D. Macdonald en su libro intitulado "A Guide to the Microscopical Examination of Drinking Water," London, 1883, representa y describe, tan sólo por su parte, cerca de 400 figuras entre partículas minerales, restos inertes de origen vegetal y animal, plantas diversas, huevecillos de entozoarios, infusorios, bacterias aún ; y en fin aquel sinnúmero de formas microscópicas vivientes que existen en el mundo de las aguas; "mundo maravilloso (dice el autor citado), simple gota del cual nos puede exhibir variedad de formas casi tan numerosas como la que contiene la superficie del globo mismo".

† A. Gautier. *Chimie appliquée á la physiologie á la pathologie et à l'hygiène* (p. 155).

Letheby, uno de los preconizadores del ensaye de la oxidación por el permanganato de potasio, decía más ó menos por la misma época en una lectura pública dada en Londres: "Desconocemos en los actuales momentos cuáles son los agentes inmediatos de ciertas enfermedades. Según todas las probabilidades son gérmenes vivos; es muy posible, aunque no probable, que un germen viviente pueda vivir en el agua mientras otras cosas desaparecen; tan minúsculos gérmenes no pueden descubrirse con el microscopio ni con los procedimientos químicos."

En fin, podríamos multiplicar las citas por el estilo, como prueba de lo arraigado que estaba el convencimiento de que en la infección de las aguas tenía que ver algo como un *contagium vivum*; y eso en una época en que ni sospecharse podían los importantes descubrimientos que han venido á echar las bases de una nueva ciencia: la microbiología.

No se ignoraba, es cierto, la existencia ni faltaban clasificaciones de esas últimas formas de la vida designadas hoy bajo el nombre genérico de *bacterias*; últimas en la escala de los microorganismos como pequeñez y organización simplísima, pero las primeras, sin duda, por la influencia tan general y profunda que ejercen en la economía de la naturaleza. Pero, fuera del descubrimiento del germen carbuncoso, los pocos hechos mal estudiados y peor comprobados que servían para fijar el carácter patógeno de esos organismos elementales, no formaban base suficiente á un cuerpo de doctrina; como tampoco la falta de medios adecuados de investigación permitía comprobar de una manera fehaciente la presencia de los mismos organismos en las aguas de alimentación.

Sólo en la última década, y como resultado de perse-

verante estudio, ha sido posible demostrar de un modo inequívoco, la relación existente entre ciertos microbios y algunas enfermedades cuya índole parasitaria, y cuya propagación por las aguas era imposible en muchos casos dejar de suponer. Demostrar en ellas la existencia de los gérmenes cuya implantación en el cuerpo humano es causa comprobada de desórdenes más ó menos fatales, equivalía á sorprender el secreto mismo de esa infección tan imposible de descubrir por los variados procedimientos químicos que hemos pasado en reseña. Tal es lo conseguido ya, en parte, merced especialmente á los descubrimientos y á los métodos de investigacion iniciados por Pasteur, principal creador de una de las teorías más fecundas y trascendentes de nuestros días.

En el difícil y todavía oscuro estudio bacteriológico de las aguas, el método generalmente empleado es el de aislar los gérmenes y hacerlos multiplicarse en forma de colonias individuales en una masa transparente de gelatina nutritiva de consistencia semisólida. Dos fines se persiguen de este modo: hacer la cuenta de las bacterias existentes en cierta cantidad de agua, y estudiar separadamente las colonias.

No escasean, por cierto, las objeciones contra la ventaja del método, pues si de la estadística de los gérmenes se trata, *v. gr.*, nada más falaz como resultado visto el muy escaso número de los que se desarrollan en colonias á la máxima temperatura que sin fundirse puede soportar la gelatina nutritiva; y, por lo mismo ¿cómo saber si entre los no desarrollados, que son la mayoría, se encuentran ó no los gérmenes precisamente nocivos? *

* Una serie de siembras con el agua potable de Valparaíso (Enero á Marzo de 1887) dió un promedio de 25 á 30 colonias por cc. después de tres días de cultivo á la temperatura de 20°. en jaletina de caldo

A lo primero conviene observar sencillamente que si el método tiene por fin principal dar una idea acerca de la pureza orgánica y microbiológica del agua, los resultados que arroje valdrán por lo menos tanto, desde el punto de vista sanitario, como los resultados numéricos del examen químico, sea que se expresen estos en oxígeno consumido, en amoníaco desprendido ó en carbono hallado por 100,000 partes de agua.

La segunda objeción es más seria. Cabe responder á ella, sin embargo, que de los gérmenes que se consideran relacionados con la causa de ciertas enfermedades contagiosas, y capaces de vivir como saprófitos en el agua, todos probablemente pueden desarrollarse y formar colonias visibles en la jalea nutritiva. La dificultad principal en este caso es la acción invasora de ciertas especies que peptonizan la gelatina, licuándola mucho antes de trascurrir tiempo suficiente de incubación para las colonias de los microbios cuya existencia en el agua sometida á examen se desea averiguar. Pero estas imperfecciones del método son de pura forma, no de principio; por lo que se busca hoy día perfeccionamientos de detalle que lo hagan más seguro y más rápido. Como una muestra de lo mucho que todavía puede esperarse en tal sentido, limitarémonos á hacer presente que ha bastado una ligera modificación en la técnica usual para hacer menos difícil la operación de llegar al descubrimiento del bacilo tífico en las aguas inficionadas por este germen. Tal resultado importantísimo, y sobre el cual hemos tenido que llamar anterior-

natural. En el caldo líquido, la centésima parte de 1 cc. de la misma agua enturbiaba regularmente de 5 á 7 de los 25 tubos en que se había fraccionado el caldo (Método de Miquel), el cual por lo tanto, acusaba una proporción 20 veces más grande de microorganismos.

mente la atención, con motivo de otro orden de consideraciones prueba, en particular, la eficacia de los cultivos en gelatina; pero más que todo prueba de un modo general la preeminencia del examen bacteriológico sobre cualquiera de los otros, y la necesidad imprescindible de aplicarlo en todo estudio de las aguas potables.

Sin este nuevo y poderoso elemento de investigación, el análisis químico condenará terminantemente, y con razón, un agua cargada de materia orgánica, aunque en todo otro concepto pueda ser innocua; á la vez que dará patente de sanidad á otra agua perfectamente límpida y pura de acuerdo con ese mismo análisis, pero que acaso sea "tan mortífera como el ácido prúsico," según la expresión de Huxley.

Conclusiones.—En la rápida discusión que precede, hemos procurado exponer en conjunto las cualidades y los defectos de cada método, su utilidad en determinados casos y circunstancias, y su insuficiencia en otros, á fin de llegar á conclusiones prácticas sobre la elección de los que más convenga aplicar, sea al examen ocasional de las aguas potables, sea á su examen sistemático y periódicamente repetido.

Aquí se hace necesario insistir de un modo muy explícito sobre la importancia y alcance tan diversos que corresponden á estos dos exámenes.

Es el primero ocasional, según queda dicho, y aunque cuidadosamente aplicado, pueden muy bien sus datos ser de poco ó ningun valor en gran número de casos. Por ejemplo, una circunstancia excepcional cualquiera, especialmente tratándose de pequeñas masas de agua, es capaz de modificar profundamente la calidad del líquido, y así un examen aislado se hallará en contradicción con otro hecho á pocos dias de intervalo. No

es esta una simple hipótesis, pues caso ha ocurrido en que el examen bacteriológico ha revelado la presencia de los bacilos de Eberth en el agua de un pozo cuando días más tardes ya habían desaparecido. Ahora bien, ¿podría este último dato servir de certificado de pureza, en la ignorancia de si se trata de una infección eventual y pasagera, ó bien de una infección permanente del agua, aunque sujeta á alternativas por cualquier causa que fuese? Evidentemente no.

Así como las observaciones meteorológicas aisladas tienen valor muy especial y de circunstancias, en tanto que de su conjunto sácanse deducciones de una utilidad mucho más trascendental, no de otra suerte el examen de ocasión y aislado de las aguas potables es de limitado alcance comparado con el examen regular y periódico, tan lleno de valiosas indicaciones para la higiene pública.

La cual, allí donde su organización es mas completa y sus disposiciones son más rigurosamente acatadas, deriva grandes bienes en pro de la salud pública, con la vigilancia permanente que implica el examen reglamentario de las aguas que se vierten en las cañerías de una población. Gruesas sumas para dotar de buena agua potable á las ciudades que actualmente carecen de ella, y para aumentar ó mejorar el servicio de otras que ya gozan parcialmente de esta ventaja, acaban de votarse (1888) por el congreso de nuestro país. No será el beneficio completo, ni la medida dará á la larga los resultados que deben esperarse de su importancia incalculable, si junto con la terminación de las obras no se adopta el plan de vigilancia que indican los principios de la ciencia.

Hasta aquí, el sistema ha sido siempre en muchas

partes, darse por satisfechos con la adquisición de un agua estimada como buena para que sirva al abastecimiento de una ciudad. Después . . . . . bien pueden sobrevenir causas diversas que alteren pasagera ó profundamente su calidad, sin que autoridades ni público tengan siquiera lugar á advertir la irregularidad de situación semejante; situación inaceptable en dondequiera que rijan los preceptos de una organización sanitaria á la altura de las exigencias modernas.*

* El agua de El Salto, de que se surte principalmente Valparaíso, era á principios de 1887 de una calidad podríamos decir irreprochable, de acuerdo con el triple examen mineral, orgánico y bacteriológico practicado de semana en semana durante los dos primeros meses del año aquel. A vuelta de poco, y á consecuencia de las lluvias y de nuevos trabajos emprendidos en los pozos, la cantidad de materia orgánica y el número de colonias aumentó considerablemente (2·50 miligrs. de oxigeno consumido por litro, en vez de 0·38 miligrs.; y como 800 colonias en la gelatina en vez 25). Si existiese en Chile la inspección de las aguas, y estuviesen en vigor los reglamentos del caso, este cambio no habria pasado completamente inadvertido, ni sin dar origen á alguna medida para arbitrar la filtración industrial del agua, como quiera que tal proporción de oxígeno consumido (para no hablar sino de un sólo dato) es con mucho superior á lo admitido para las aguas potables. El agua de Santiago, que no tuvimos oportunidad de ensayar sino dos ó tres veces, se encontraba en el mismo caso. No quiere esto decir que se tratase de un mal efectivo y de inmediatas consecuencias, pero sí que existían más probabilidades de verdadero peligro.

Mientras tanto, en Londres por ejemplo, un departamento especial del Local Government Board (Ministerio del interior) tiene á su cargo la vigilancia de las aguas que abastecen á la metrópoli. Su jefe, el coronel Sir Francis Bolton, recibe mensualmente un detallado informe sobre los análisis de numerosas muestras de aguas sacadas de las cañerías de las siete empresas que existen allí. Este documento lleva actualmente al pié las firmas de Crookes, Oddling y Meymott Tidy. Tenemos á la vista los informes correspondientes al primer semestre de 1884. Durante este periodo el número de muestras examinadas no fué menor de 1071, fuera de 106 muestras del Támesis y de 42 del Lea sometidas al análisis completo por el método de la combustión. De estos exámenes

Ahora, si los diversos métodos de examen á la fecha conocidos son aisladamente ineficaces, es claro que el mejor plan será combinarlos discretamente en su aplicación, de modo que los resultados parciales permitan en conjunto llegar á las nociones más claras y precisas acerca de la cantidad y naturaleza de los elementos minerales, de la sustancia orgánica y de los microorganismos de las aguas ensayadas.

Será parte á facilitar este resultado y á hacerlo de más estima, la mayor frecuencia de los ensayes, y el conocimiento de ciertas circunstancias locales ó de tiempo, que en todas partes pueden ocurrir en menoscabo del grado de pureza, digámoslo así, de las aguas que forman la provisión diaria.

De todo lo expuesto y discutido hasta aquí, podemos en fin deducir las siguientes conclusiones generales:

1. En toda población, ó por lo menos en las ciudades de cierta importancia, las aguas que sirven á su proveimiento deben ser periódicamente sometidas á una inspección sanitaria.
2. En el estado actual de los conocimientos dicha inspección debe consistir, para las aguas ya filtradas industrialmente, ó suficientemente claras por naturaleza, en un triple examen mineral, orgánico, y bacteriológico; siendo el examen mineral de mucho menor necesidad que los otros dos.

resulta que los datos cuantitativos referentes á esas aguas estaban dentro de los límites exigidos en cuanto á filtración conveniente, materia orgánica, etc., etc. Por supuesto faltan los datos bacteriológicos, no siendo conocido á la sazon el método actualmente en uso.

Tal lujo de investigación en un país cuyo alto sentido práctico en materia de comodidades y de higiene es reconocido, no obedece sin duda á necesidades ficticias, sino á una muy positiva y de ineludible atención.

3. Los resultados deben publicarse periódicamente, junto con todas las observaciones á que hubiere dado lugar la inspección.

El conjunto de determinaciones de que podría constar este múltiple examen lo damos á continuación en forma tabular, y como ejemplo tomamos el agua que actualmente constituye la principal fuente de provisión de Valparaíso.

Terminaremos volviendo á insinuar que los análisis ó datos aislados, si no carecen de cierta utilidad práctica, no permiten, con todo, llegar á las generalizaciones de más valía que sólo es posible obtener de observaciones metódicamente hechas, y de acuerdo con las conclusiones precedentes.*

* En una moción presentada al Congreso de Higiene y de Dermatología de Viena, celebrado en 1887 (sesión de 27 de Setiembre), y relativa al criterio con que debe juzgarse la naturaleza higiénica de las aguas, el Prof. Gärtner, de Yena, llega á las siguientes conclusiones:

1. Las aguas potables y domésticas no deben encerrar ni sustancias tóxicas ni gérmenes de enfermedades.
2. Debe excluirse hasta la posibilidad de que se mezclen con las aguas potables y domésticas, sustancias tóxicas ó gérmenes patógenos; ó bien, adoptaránse providencias adecuadas para eliminar ó separar estos elementos perjudiciales.
3. Las aguas potables y domésticas deben incitar por sí mismas á la bebida y al empleo de ellas.
4. La prueba de la presencia de materias tóxicas deberá hacerse por el análisis químico; la de los gérmenes de enfermedades por el examen microscópico y biológico.
5. Cuanto más probado esté que el agua ha sido contaminada por deyecciones y residuos de la economía humana, mayores serán las probabilidades de intoxicación ó de infección para el individuo.
6. La prueba de esta contaminación será hecha, en primer lugar, por el análisis químico, y en seguida, por el examen microscópico y bacteriológico. Fuera de la apreciación de estos resultados, tendráse particularmente en cuenta las condiciones de localidad.

7. **Para que un agua invite á la bebida y al empleo de ella, necesario es que sus cualidades físicas estén por encima de toda crítica; que las materias que tiene en disolución no difieran mucho en cantidad y en calidad de las de aquellas aguas locales que se reputan como buenas, y que los animálculos y las pequeñas plantas y sus residuos no existan en cantidad notable; que estén libres, en fin, de todo ensuciamiento causado por residuos de la economia humana.**
8. **Para juzgar de la calidad de un agua, es necesario recurrir al examen comparativo de varias aguas de la misma especie y procedentes de la misma región.**

AGUA POTABLE DE VALPARAISO.—EL SALTO—Enero á Marzo de 1887.

EXAMEN MINERAL.								EXAMEN ORGÁNICO.				EXAMEN BACTERIOLÓGICO.	
MILIGRAMOS POR LITRO.					CC. POR LITRO.			MILIGRAMOS POR LITRO.				ESTADÍSTICO.	CUALITATIVO.
Residuo.	Dureza en $CaCO_3$.	Metales nocivos.	Cloro.	Acido nítrico.	Gases.			Amoníaco.		Oxígeno consumido.		Colonias por 1 cc.	Examen de las colonias.
					O	N	CO_2	Libre.	Albuminóideo.	En disolución alcalina.	En disolución ácida.		
120	55	0	30	0	5.5	13	10·5	0	0·005	0·38	No se hizo.	25	—
Tratado este residuo por el H_2Cl produciase efervescencia.	Equivalente en grados hidrotimétricos franceses: 5°5.	Se hizo el ensaye para el plomo, el fierro y el cobre, con resultados negativos.	Cantidad relativamente grande debida á la ubicación marítima de El Salto.	Método empleado, el del aluminio	La relación del O al N, muy vecina á la normal en el agua recién tomada de la cañería.			Resultado sensiblemente uniforme en los meses indicados.		Resultado sensiblemente uniforme en los meses indicados.		Colonias brotadas en jaletina de caldo natural, después de 3 días de cultivo á 18°. En caldo, 700 colonias, después de 2 semanas de cultivo á 35°.	Pequeñas colonias sólidas, sin el aspecto ni reacciones de cultivo de las colonias tíficas. Examen microscópico, de acuerdo con lo anterior.

Observaciones generales.—Los caracteres físicos del agua concordaban con los resultados anteriores: *Color*, insignificante, mirada el agua á través de un tubo de 40 ctm. de largo; *Olor*, inapreciable, después de mantenida en frasco cerrado durante 24h., á 35°.

Conclusiones.—Lo resultados del triple examen *mineral*, *orgánico* y *bacteriológico* corresponden á un agua potable de la mejor calidad. [Después, estas buenas condiciones cambiaron. Véanse las notas pp. 24 y 163.]

PRIMERA PARTE.

EXAMEN MINERAL.

CAPÍTULO I.

OBJETO Y ALCANCE DEL EXAMEN MINERAL.—INTERPRETACIÓN DE SUS RESULTADOS.

I. OBJETO Y ALCANCE, DE LA DETERMINACIÓN DE LAS SUSTANCIAS MINERALES DEL AGUA.

PERMÍTENOS la rápida reseña que de los diversos ensayes hemos hecho en la INTRODUCCIÓN, establecer muy claramente desde luego cuál es la única importancia del análisis mineral de las aguas potables, y cuál el alcance que debe darse á la determinación cualitativa y cuantitativa de las sales y aún de los gases en ellas disueltos. Por exactos que sean los datos numéricos en esta forma obtenidos, revelan por sí tan poca cosa que con el fin de llegar por su medio á conclusiones real y verdaderamente útiles, necesario es discutir esos datos con referencia á los tres puntos siguientes :

A. Significado propio de la ausencia total, ó de la mínima proporción de sustancias minerales peculiares al agua potable.

B. Significado propio de un exceso de ellas ó de la existencia de sales tóxicas.

C. Significado de una ú otra de las anteriores circunstancias con respecto al carácter de la materia

orgánica de un agua, y al carácter y condiciones de existencia de los microorganismos que pueden desarrollarse en tal agua.

Sin tener en cuenta este triple orden de consideraciones sería muy difícil y aventurado formular un fallo concienzudo acerca de la buena ó mala calidad del agua examinada.

Por lo que toca á los dos primeros puntos, la referencia es sencilla, y nos conduce á veces á deducciones inmediatas sin necesidad de mucha reflexión. Tal muestra de agua, *v. gr.*, revélanos por el examen químico su excesiva pobreza en cloruro de sodio: puede decirse, sobre la marcha, que esta circunstancia no influye ni puede influir en pro ó en contra de la calidad del líquido; en tal otra los reactivos señalan la presencia del plomo ó del cobre: en este caso, por el contrario, hay que establecer *prima facie*, sin recurrir á más investigaciones que el agua es lisa y llanamente inaceptable.

No es tan sencillo el asunto cuando se trata de tomar en consideración el tercer punto consignado. Puede suceder en este caso, por ejemplo, que la presencia de una sustancia mineral disuelta no ejerza influencia alguna sobre las condiciones de existencia de los gérmenes más ó menos nocivos que puedan impurificar el agua; pero en ciertas ocasiones llegará á constituir un indicio precioso para determinar el origen y posible carácter de la contaminación orgánica. De esta suerte, una cantidad excesiva de cloruros, cosa en sí de poca importancia tratándose de las cualidades higiénicas del agua, conviértese en uno de los signos más sospechosos de ensuciamiento por desperdicios de la economía humana y, por lo tanto, de la posible existencia de

gérmenes patógenos, como los de la fiebre tifoidea en toda época y los del cólera en época de epidemia, si con la presencia de los cloruros coincide la de una fuerte dosis de amoníaco libre, de nitratos, etc.

Sucede á veces que aguas de fuentes indiscutiblemente inmunes de toda contaminación contienen, sin embargo, fuerte proporción de cloruros, principalmente de cloruro de sodio, por la sola y única circunstancia de hallarse muy vecinas al mar.* La ausencia de amoníaco libre y albuminóideo, ó de nitratos, junto con la pequeña cantidad de sustancia orgánica, dirán lo bastante para estimar la presencia de ese compuesto salino como un signo inocente, como un simple resultado de las condiciones especiales de la localidad. Por lo cual, al revés del ejemplo anterior que nos condujo á un rechazo terminante, en el presente una conclusión análoga sería injustificada; y, para pronunciarse definitivamente, en caso de sospecha, fuera necesario recurrir á un prolijo examen bacteriológico.

Lo dicho para los cloruros puede hacerse extensivo á las otras sales del agua, y aún á los gases en disolución; y así para fallar en uno ú otro sentido en presencia de los datos numéricos suministrados por el examen mineral, es de todo punto indispensable seguir el método á la vez inductivo y deductivo que hemos indicado á la ligera, y para lo cual servirán en parte los datos contenidos en el siguiente capítulo.

Tratándose, pues, de la relación directa ó indirecta que puede caber entre la presencia de algunas sustancias minerales y el carácter y el desarrollo de los microorganismos en las aguas, no hay que ocultar las dificultades para llegar á conclusiones bien claras y precisas.

* Por ejemplo, el agua de El Salto y otras de Valparaíso.

Lo propio sucede cuando con idéntico fin se discute la presencia de la materia orgánica.

Puede decirse de un modo terminante que todos los documentos analíticos sobre las sustancias disueltas en el agua carecen de valor si no se discuten con referencia á los tres puntos en cuestión, y muy especialmente al tercero.

En la determinación de la materia orgánica veremos que análogo sistema de considerar las cosas se impone aún con más necesidad. De consiguiente, ningún analizador concienzudo debe dejar de cumplir con este requisito en cuanto le sea posible; y la persona, corporación ó autoridad cualquiera que ordene un ensaye, deberá exigir como complemento de la parte puramente analítica las deducciones que se desprendan de los datos suministrados junto con la muestra del agua, y de los resultados mismos del ensaye. Todo esto, sin perjuicio de las útiles conclusiones propias á que se pueda llegar con ayuda de antecedentes y particularidades relativas al agua, y que por su misma variada naturaleza fuera difícil detallar al analizador.

Finalmente, despréndese de todo lo anteriormente expuesto en este capítulo, como consecuencia digna de tomarse en cuenta, la poca utilidad del análisis completo y cuantitativo del residuo mineral de las aguas. Sin comparación mas útil es, lo repetimos, y más lleno de enseñanzas desde el punto de vista higiénico, el triple examen cuyos detalles prácticos, así como la manera de interpretar sus resultados forman el asunto de este libro. Hay casos, sin embargo, en que el análisis mineral completo tiene su oportunidad, p. ej., para hacer comparaciones en períodos más ó menos largos de tiempo sobre los cambios que hubieren ocu-

rrido en lo que podríamos llamar el condimento mineral de las aguas. Pero, en rigor, el caso único en que el análisis general tiene ciertamente importancia es más bien al tratarse de elegir entre varias aguas disponibles, aquella que más convenga como fuente de provisión para una ciudad, máxime si se trata de una gran ciudad. La razón de esta distinción se explica en vista de que en el último caso entra de por medio la construcción de obras considerables, por lo común costosísimas, que habrán de utilizarse forzosa é indefinidamente.*

II. INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS SUMINISTRADOS POR EL EXAMEN MINERAL.

A. **Falta de elementos minerales.**

1. *Falta de sólidos en general.*—Considérase como modelo ó tipo de buena agua potable aquella que, aparte de su limpieza en cualquier sentido y de poseer aeración suficiente, encierra al rededor de $0^{gr}30$ de elementos salinos útiles. Para llegar á comprender lo que por utilidad se entiende en este caso, puede servirnos la ley fisiológica en virtud de la cual se consideran convenientes los compuestos minerales que el organismo necesita estar asimilándose de un modo continuo ; y de perjudiciales ó indiferentes aquellos que antes por el contrario forman parte de los productos de eliminación diaria.

* Para el análisis completo de las aguas puede recurrirse á cualquiera de los buenos tratados de análisis químico cuantitativo, como el de *Fresenius* y otros conocidos. También servirá para el objeto el Capítulo IV. del tratado de WANKLYN Y CHAPMAN: *Water Analysis*, 6ª edición, Londres, 1884.

Ahora, en cuanto á que la economía tenga que tomar necesariamente del agua los elementos salinos reputados como indispensables, esa es cuestión aparte. Opinión muy esparcida es la de que tal sucede en realidad, según puede leerse en la casi totalidad de las obras que, especial ó indirectamente tratan de la calidad de las aguas de alimentación.

Los hechos, sin embargo, prueban lo contrario, á lo menos en cierta extensa región de Chile, endonde el empleo constantemente forzoso del agua resacada no ha contribuido en ninguna época al desarrollo de esas afecciones raquíticas y escrofulosas, tan á menudo endémicas en las montañas, y achacadas probablemente sin razón al continuado uso de aguas demasiado puras. Lo dicho acerca de los resultados de la observación en todos los pueblos de la árida costa setentrional de nuestro país, aplícase también á la marina: el agua condensada y por lo general sin más preparativos que una buena aeración, no ha sido causa de males de ningún género en las tripulaciones de nuestra armada sometidas durante largo tiempo á ese régimen.

Lo único que tanto en tierra como á bordo ha solido notarse, son ciertos desarreglos gástricos, ciertas perturbaciones de la digestión; pero esto, según todas las probabilidades, proviene de que el agua ó no ha sido sometida á aeración, ó lo ha sido imperfectamente.

Decir entonces que el agua potable para que sea calificada de buena no debe contener menos de $0^{gr}10$ (número generalmente establecido) de residuo mineral por litro, es ser acaso demasiado absolutos. No está probado que las condiciones de salubridad de las ciudades sean mejores allí donde el agua potable tenga la

proporción de sólidos recomendada como la más á propósito.*

Lo que no admite discusión, es que una proporción conveniente de sales hace al agua más sabrosa, de mejor gusto al paladar; razón más que suficiente para dar la preferencia á un agua de esta clase en igualdad de otras condiciones.

En resumen, la presencia de elementos mineralizadores en el agua es útil pero no indispensable.

2. *Falta de carbonato de calcio.*—De los dichos elementos éste es indudablemente aquel cuya nula ó insignificante proporción en las aguas potables fuera más de sentir. Cuanto se ha expuesto en el número anterior sobre los sólidos en general es aplicable, sin embargo, á la interpretación que debe darse á la ausencia del carbonato cálcico, visto que esta sal en las aguas de calidad usual, entra á formar la gran totalidad del residuo: como un 60 á 70 %. El residuo es en suma *carbonato de calcio impuro,* y nada más, dada la muy pequeña proporción de los otros compuestos que existen á la vez.

De que la cal sea uno de los materiales de la osificación, y el agua el vehículo más á propósito para llevarla al organismo, no se deduce indefectiblemente que la presencia de elementos calcáreos en ese líquido al tiempo de tomarlo de la naturaleza sea indispensable. Sería diferente la conclusión si en los productos sólidos que entran en la alimentación diaria no existiese ó

* Por ejemplo, según la estadística, la salubridad de Londres es mayor que la de Manchester ó la de Glasgow; las aguas de aquella metrópoli encierran más ó menos $0^{gr}26$ por litro; las de estas ciudades $0^{gr}066$ y $0^{gr}033$ respectivamente: no es lógico, sin embargo, atribuir á semejante causa la diferencia de condiciones sanitarias, siendo tan numerosas y complejas las otras causas que pueden influir en el mismo sentido.

fuera escasa la cal, sea en la forma de carbonato, sea en cualquiera otra de sus compuestos utilizables, de tal suerte que no alcanzase para las necesidades del desarrollo ó mantenimiento del sistema óseo. En tal caso, únicamente, tocaría al agua suplir la deficiencia de dicho principio mineralizador, como lo comprueban los clásicos experimentos de Chossat (1) y de Boussingault (2).*

3. *Falta de gases disueltos.*—Más necesario que los sólidos es el aire que toda agua para la bebida debe tener disuelto en cantidad suficiente. Así, hemos visto que aún el agua destilada no presenta inconvenientes en donde no hay otra agua natural que la supla, pero con la condición de que sea suficientemente aerada. Sin eso, nótanse al instante sus malos efectos, porque á más de desabridas, son las aguas privadas de aire pesadas é indigestas.

El anhídrido carbónico, del cual siempre se encuentra en el agua una pequeña cantidad, es también como el aire, ó sea la mezcla de O y de N disuelta, de una utilidad considerable para lo que podríamos llamar digestibilidad de ese líquido. Sin embargo, como ese gas es anestésico, si llegase á existir en exceso como en las aguas denominadas gaseosas, naturales ó artificiales, resultaría inconveniente de ello, á causa de su acción debilitadora del proceso digestivo.

Un litro de agua destilada agitada libremente á todo aire á 15° y á la presión de 76 centímetros absorbe 17·95 cc. de una mezcla gaseosa así compuesta :

Oxígeno	6·26 cc.	ó 34·88 %	en volumen.
Nitrógeno	11·69 cc.	ó 65·12 %	,,

* (1) Compt. rend., Acad., sc., t. XVI., p. 356.
(2) Compt. rend., Acad. sc., t. XXIV., p. 486 ; y t. XXII., p. 356. Citas hechas por Gautier en su *Chimie appliquée à la physiologie*, etc.

Nunca es tan elevada la proporción de oxígeno, aún en las más puras y frescas aguas naturales ; y por cierto es muchísimo menor en las aguas cargadas de sustancias orgánicas, y por consiguiente de gérmenes que absorben oxígeno. Pero este es punto que corresponde discutir en la sección C. de este capítulo.

B. **Significado de un exceso de sales.**

1. *Exceso de sales de calcio.*—Muy cargadas de carbonato, sulfato ó cloruro de calcio, las aguas no solamente cuecen mal los alimentos sino también perturban la digestión: son *pesadas* ó *crudas*. Pero estos malos efectos sobre la digestión no deben probablemente atribuirse al carbonato, pues según lo probaron Hoffmann, Miller y Graham, en años ya tan alejados como 1851, puede beberse sin inconvenientes para la salud un agua con más de 1 gramo de carbonato cálcico por litro. En cuanto á las aguas selenitosas, es decir muy cargadas de sulfato de calcio, sostienen algunos que pueden producir cálculos urinarios, á parte de otros inconvenientes ya mencionados. Ateniéndonos sólo al carbonato, no deberíamos rechazar, entonces, sin más discusión un agua que lo contuviese en exceso, con respecto á las cifras usualmente aceptadas.

Mucho se ha discutido la cuestión sobre qué aguas deben preferirse para el proveimiento de una ciudad, si duras ó blandas. En general, los higienistas han dado siempre la preferencia á las primeras, fundándose en que un agua dura, á más de ser brillante, clara y por lo común bien aerada y agradable á la vista y al paladar, contiene mucho menos impureza orgánica, siendo por lo mismo harto más fácil de conservación que las aguas muy dulces. Cuando años atrás se trató de aumentar la provisión de Paris, la comisión de químicos

encargada de informar sobre tan importante punto, fundándose en estas razones principalmente, dió la preferencia á las aguas de mayor dureza. En análoga circunstancia, otro tanto hicieron los comisionados para informar acerca del agua que más convenía para el abastecimiento de Viena.*

Si el ensaye hidrotimétrico de un agua acusa un alto grado de dureza, lo que importa averiguar es, pues, qué proporción corresponde real y verdaderamente al carbonato de calcio. En dicho ensaye, este es el único punto de valor higiénico, y se puede averiguar mediante la determinación de la *Alcalinidad* (CAP. III.).

En cuanto al sulfato y al cloruro cálcicos tomados en conjunto, no pasan de 0gr040 en las aguas potables tipos, cuyo residuo total fijo se estima en 0gr300 por litro.

2. *Exceso de sales magnésicas.*—La determinación de estas sales por el método hidrotimétrico, una vez tomadas ciertas precauciones indispensables, es sencillísima, según puede verse, en el cápitulo que trata de ella. Conviene siempre en todo examen mineral de un agua averiguar este dato, porque un exceso de sales de magnesio es perjudicial. Muy cargadas de ellas, son las aguas amargas y ligeramente purgativas; en el verano, sobre todo, debilitan la economía. Según el Dr. Benavides, † de Santiago, en un lugar vecino al río Maipo, se usa el agua de un afluente de éste, la que contiene tal proporción de sales de magnesio y sodio,

* La Comisión de Aguas de la Gran Bretaña, en su memoria sobre la provision doméstica para aquel país, se pronuncia por las aguas blandas, pero sólo basándose en consideraciones de orden industrial ó de conveniencia puramente doméstica.

† BOLETÍN DE MEDICINA, Año IV., Nº 37. Julio 1888.

que sus cristalizaciones blanquean la yerba con ella regada. Produce dicha agua un efecto muy marcado en las personas que la usan por primera vez.

Tomando siempre como norma los 0gr300 de residuo, debe corresponder á este total no más de 0gr020 de sales magnésicas, si hemos de atenernos á la composición media de las buenas aguas naturales.

3. *Otras sustancias minerales.*—Fuera de la sílice ó ácido silícico y de algunos silicatos alcalinos (todo lo que en conjunto en estas mismas aguas no pasa de 0gr01 por litro) ; y, fuera de la cal y de la magnesia, que en cierta proporción excesiva tienen algun significado con respecto á la calidad del agua, hay que tomar en consideración, además, aquellas sales venenosas aún en mínima cantidad. Tales son, *v. gr.*, las de plomo y cobre, si bien es verdad que las de este último metal parecen no ejercer influencia tan nociva como en general se supone. Se verá en el CAP. IV. que no se admiten por litro más de 1 á 2 miligramos de cualquiera de esos metales.

Unas cuantas palabras debemos agregar también sobre la presencia de los nitratos en el agua, mirada la cuestión desde el punto de vista de lo que significa directamente esa presencia con relación á la salud del individuo. Los nitratos en cierta proporción, y especialmente el de magnesio, ejercen acción terapéutica; así que su absorción constante por el organismo no puede ser indiferente á la larga. Según las conclusiones de la Comisión de aguas de Viena, la propiedad purgativa de un agua es proporcional á la cantidad de nitratos de magnesio y de potasio que contiene.

Advertiremos, sin embargo, que los efectos dañosos

de las aguas más ó menos cargadas de nitratos (La Comisión de Viena estima como máximo aceptable 4 miligramos de ácido nítrico por litro) dependen acaso, antes que de cualquiera otra cosa, de la excesiva cantidad de gérmenes que pueden contener, y de los productos nocivos resultantes de la nutrición de ellos.

C. **Relación entre ciertos componentes minerales y los microorganismos.**

Punto es este, sin duda alguna, de más importancia que los dos anteriormente considerados. Hay que estudiarlo de preferencia con respecto á los cloruros y á los nitratos, así como también á la proporción de oxígeno existente en la mezcla gaseosa disuelta.

Ya hemos dado á entender, con lo dicho acerca de las aguas duras y de su menor propensión á corromperse, á causa de contener generalmente poca sustancia orgánica, que un exceso de cal, *v. gr.*, de significar algo con relación á los microorganismos, sería que antes bien se opone á la proliferación de ellos.

Un alto grado hidrotimétrico no implica, sin embargo, que un agua no pueda hallarse impurificada por infiltraciones peligrosas ; por lo, que al fin de cuentas, la mayor ó menor dureza no podrá servir nunca de guía en tan delicada cuestión.

1. *Cloruros.* — Un camino indirecto conduce á la interpretación que debe darse á la presencia de ciertos compuestos minerales con respecto á las bacterias del agua. Hay que referirse primeramente á la sustancia orgánica de origen fecaloide, como excipiente el más común de los gérmenes considerados infecciosos.

Para apreciar la cantidad de cloruros, ó mejor dicho del cloruro de sodio, casi exclusivamente el predo-

minante, basta conocer la de miligramos de cloro por litro de agua, revelada por el análisis. En las aguas naturales muy puras esta cantidad es de $0^{gr}010$ á $0^{gr}020$. Sin embargo, cuando las mismas tienen su asiento en la inmediata cercanía del mar, mucho mayor es la proporción, siendo obvia la causa de este fenómeno. Son ilustrativos los siguientes ejemplos.

		Cantidad de Cloro por litro.
No. 1.	Agua potable de Santiago . . .	8 mgrs.
,, 2.	Id. Valparaíso (El Salto)	30 ,,
,, 3.	Id. id. (Quebrada verde)	60 ,,
,, 4.	Agua del Pozo Colón (Valparaíso) .	230 ,,

Es la primera, agua de fuente de muy al interior de la costa; la segunda proviene de los pozos del estero de El Salto, tan vecinos al mar, como se sabe; la tercera de una de las represas alimentadas por la Quebrada Verde, represa de gran superficie, descubierta enteramente, y todavía más vecina á la costa que los pozos de El Salto; y, por fin, la cuarta es agua de un pozo situado en medio de la población, en sitio donde el subsuelo es de lo más poroso, y saturado, digámoslo así, con las infiltraciones de las numerosas letrinas cercanas, y con los derrames de las mismas cañerías de desagüe que cruzan por los alrededores.

A excepción de la última, todas ellas gozan de inmunidad completa en cuanto á contaminación animal, cual lo deja comprender lo apartado de sus respectivas ubicaciones, y lo comprueba hasta donde es posible el examen orgánico por el método del amoniaco y la determinación del ácido nítrico. La proporción de cloro de la No. 2 es ya crecida, y la del No. 3, anormal;

y, si no se conocieran las circunstancias que dejamos expuestas, motivo habría para suponer que el exceso de cloro era debido, según toda probabilidad, á la contaminación de las aguas por orina ó materia excrementicia.

Puede decirse, en tesis general, que salvo casos análogos á los que preceden, todo exceso de cloro, es decir más de 50 á 60 miligramos por litro, es signo muy sospechoso de contaminación de aquella naturaleza: ejemplo, el agua No. 4.

Ahora bien ¿qué significaría esto? Simplemente el peligro de que en la materia de las infiltraciones existiesen no sólo la infinidad de gérmenes vulgares que comunmente encierra, sino también especies patógenas.

No se necesita que la contaminación provenga precisamente de materia fecal, pues la misma orina, en ciertas circunstancias, es tan de temer como la anterior. Se ha probado, por ejemplo, que la orina de los enfermos de fiebre tifoidea encierra los bacilos específicos de esta enfermedad, al menos en ciertos casos y períodos del mal.* De ahí el sospechoso significado de mucho cloro en el agua ensayada, cuando no existen las circunstancias de vecindad del mar ú otras análogas; sabiendo entonces que el gran exceso no puede provenir, según todas las probabilidades, sino del cloruro de sodio de la orina. Ya veremos, además, al discutir los datos suministrados por el examen orgánico (CAP. VII.) que si con lo anterior coincide una

* Bouchard, en Francia, encontró (21 veces en 65 tíficos) que los casos de nefritis con albuminuria que aparecen en el curso de la fiebre tifoidea, coinciden siempre con la presencia de ciertos bacilos en la orina de los enfermos. Más tarde, Seitz en Alemania ha comprobado por los métodos bacteriológicos que se trata en tales casos de los bacilos de Eberth.

fuerte cantidad de amoníaco libre, la sospecha puede llegar á convertirse en certidumbre.

Como se ve, no hay en suma relación directa alguna entre la presencia de los cloruros en exceso y la de los microorganismos; pero su determinación como dato higiénico se impone en todo examen de aguas destinadas á la bebida, teniendo en cuenta lo dicho en el párrafo anterior. Por lo demás, no necesitamos, para comprender la utilidad de esa determinación, saber si los cloruros constituyen ó no un principio ó elemento apropiado para mantener la vitalidad de esos hongos inferiores, ó á favorecer su desarrollo.

2. *Nitratos.*—De esta misma índole son las consideraciones que deben guiarnos en la determinación de los nitratos, aunque tratándose de estas sales haya una relación más directa entre su presencia y ciertas formas de la actividad microbiana. Es, en efecto, verdad científicamente demostrada que el proceso de la nitrificación de los productos orgánicos nitrogenados del suelo se debe á una actividad de esa naturaleza. A su vez, los nitratos así originados pueden ser reducidos por ciertas especies de microorganismos, los cuales obtienen de esta suerte el nitrógeno necesario á su nutrición. En una serie de experimentos hechos por Percy F. Frankland,* de 32 diferentes especies estudiadas, 16 á 17 reducían más ó menos activamente los nitratos á nitritos. A veces la acción era todavía más enérgica, y había evolución de amoníaco.†

Pero no es esto lo que interesa más directamente

* *Chemical News*, v. 57, marzo 2, 1888.

† Véase también: Gayon et Dupetit. *Recherches sur la reduction des nitrates par les infiniment petits.* [Mém. de la Soc. des Sc. ph. et nat. de Bordeaux, t. II. (3e Série), 2e cahier.]

al analizador. El cual, si ve que existe una gran proporción de nitratos en el agua (arriba de 15 miligranos de NO_3H por litro) se encuentra forzosamente en presencia de este dilema: ó provienen esos nitratos de una causa natural, como ser la naturaleza geológica de la localidad, ó bien son el resultado de la oxidación de la materia nitrogenada del agua, y en este último caso constituyen un indicio más para llegar al descubrimiento de la contaminación orgánica. El proceso de la nitrificación es aquí del mismo carácter indicado anteriormente, y tanto más rápido, cuanto más putrefactible, más rica en principios albuminóideos es la sustancia organizada.

De esto resulta que si la infiltración es muy reciente, el ensaye revelará mucha de esa materia, y escasa ó nula proporción de nitratos; en tanto que si data de algún tiempo, máxime cuando han intervenido las circunstancias favorables de temperatura, de porosidad del terreno, etc., inverso es el resultado. En suma, ateniéndonos exclusivamente á los nitratos, ni su presencia excesiva revela que haya contaminación orgánica sospechosa, visto que puede provenir de causa indiferente, ni su ausencia prueba inmunidad, en virtud de que si no existen en el momento, posible es que se deba esta circunstancia á que la nitrificación no ha empezado todavía, ó á que hayan sido reducidos en gran parte á nitritos por la acción de los microorganismos.

Las determinaciones concomitantes del cloro, del amoníaco, del oxígeno consumido por la materia orgánica y la de los gases disueltos en el agua, permitirán generalmente decidir el punto en dificultad; á la vez que con la averiguación de los nitratos quedará,

reforzada, casi siempre, la significación propia de cada una de las otras determinaciones enunciadas.

Como prueba, sin embargo, de la importancia que puede llegar á tener aisladamente la determinación que nos ocupa, trascribimos lo siguiente de un autor que escribía antes, puede decirse, de la aparición de la actual teoría microbiana, y que por lo mismo de carecer el dato trascrito de espíritu preconcebido, tiene más fuerza que cualquiera otra demostración: "Común es hallarse con aguas de pozos poco pro-"fundos, cargadísimas de nitratos y excepcionalmente "libres de materia orgánica. *No una, sino muchas* "*veces he encontrado que algunas aguas, las cuales sin* "*lugar á dudas habían dado origen á fiebre tifoidea*, "no contenían arriba de 0·05 miligramo de amoníaco "albuminóideo, por lo que, y á pesar de contener dichas "aguas gran cantidad de nitratos, habían sido declaradas "como á propósito para la bebida por químicos de in-"negable habilidad." *

El mismo autor cita, en seguida, el caso de un distrito endonde nunca faltaba la fiebre tifoidea, y cuyas aguas, todas de pozos situados á poca distancia de letrinas, hallábanse manifiestamente contaminadas; no obstante lo cual los analizadores, sin tomar en cuenta el dato revelador de los nitratos y ateniéndose exclusivamente á la pequeña cantidad de materia orgánica, declararon siempre que el agua era pura é inofensiva.

No tanto de la cantidad en valor absoluto de los compuestos nítricos que nos ocupan, como de las circunstancias que acompañan á su presencia de un

* EKIN. *Potable water. How to form a judgment on the suitableness of water for drinking purposes.* 2ª edición, Londres, 1880.

modo más ó menos notable, es de donde se desprenden las más utiles enseñanzas de este ensaye particular. Algo parecido, vimos ya, sucede con los cloruros.

Por vía de comparación damos los siguientes datos, que hasta cierto punto pueden servir de guía en la estimación de los nitratos. Tomamos precisamente las mismas aguas que nos sirvieron para compararlas con respecto al significado que se debía dar á las diversas proporciones de cloruros. Así como en estos el cloro es el índice tomado en consideración, en los nitratos es el ácido nítrico.

	NO_3H por litro.
Agua potable de Santiago	1·67 mgrs.
Id. de Valparaíso (El Salto) . .	1·30 ,,
Id. id. (Quebrada Verde)	1·85 ,,
Agua del Pozo Colón (Valparaíso) . .	52·00 ,,

3. *Gases.* Si la proporción del oxígeno al nitrógeno en el aire de una muestra de agua saturada ó no de esa mezcla gaseosa, á 15° y á 76 centímetros, es más ó menos $\frac{35}{65} = 0·54$, entonces cuando la relación sea menor que este coeficiente, habrá que atribuir la disminución del oxígeno á la absorción de este gas por los microorganismos. Casos se presentan, aún, en que la desaparición del oxígeno es completa, lo cual resulta en un aumento en la cantidad del anhídrido carbónico que encierran las aguas naturales; aumento que puede tomarse como uno de los productos de la nutrición microbiana. Este complejo fenómeno, del cual tendremos ocasión de ocuparnos un poco más detalladamente en la PARTE III. (CAP. X.) se resuelve principalmente en una doble oxidación la del nitrógeno y la del

carbono, á parte de otras reacciones secundarias que no tienen que ver con el punto que nos ocupa actualmente. De ahí el consumo de oxígeno, y la consiguiente producción de nitratos y de CO_2.

Existe, pues, relación estrecha entre la cantidad y naturaleza de los gases disueltos en el agua y la presencia por lo menos de ciertas especies bacterianas cuyas condiciones de existencia se hallan íntimamente ligadas á la presencia del oxígeno. (Véase lo referente á los aerobios y á los anaerobios, PARTE III., CAP. X.). Aún las aguas que por falta de aeración no encierran la cantidad de gases correspondiente á sus condiciones de temperatura y de presión, pueden ser estudiadas con respecto á este punto, ya que por pequeña ó grande que sea la cantidad de aire disuelto en ellas, siempre subsistirá la relación $\frac{O}{N} = 0{\cdot}54$, caso que no haya habido oxidación de materia orgánica bajo la influencia de los microorganismos indicados.*

Así, por ejemplo, el agua de El Salto, bastante pura, orgánica y biológicamente considerada (en 1887, después estas buenas condiciones han cambiado), contenia la siguiente cantidad de gases reducidos á 0° y á 76 centímetros de presión:

O	5·5 cc.	Por litro.
N	13·0 id.	
CO_2	10·5 id.	

Se ve que el oxígeno y el nitrógeno se hallan en relación un poco inferior á la normal: 0·42 en vez de 0·54. No vemos por qué no tomar este resultado como

* Véase lo dicho acerca del oxígeno producido por las algas microscópicas al principio del CAP. X., DETERMINACIÓN DE LOS GASES.

indicio de pureza, siendo así que por tal se considera, p. ej., una pequeña cantidad de oxígeno consumido, ó la existencia de mínima proporción de amoníaco libre ó albuminóideo, en las aguas sometidas á un estudio higiénico.

Á la inversa, la desaparición total ó casi total del O, junto con un aumento en la cantidad del CO_2, da lugar á inferir que se trata de una acción debida á los microbios. Bien es verdad que el fenómeno aislado nada dice ni puede decir en resumidas cuentas acerca del carácter nocivo ó innocuo de dichos gérmenes; pero, prescindiendo de esta consideración, es indudable que el dato que nos ocupa, agregado á los otros ya obtenidos ó que se puedan obtener sobre la misma agua, no carece de valor ilustrativo desde el punto de vista higiénico, ni deja de contribuir á la formación del concepto final.

Hemos dicho que el CO_2 puede ser un producto de la nutrición microbiana; agregaremos que suele ser fatal á la subsistencia de los microbios, y que en general el anhídrido carbónico existente en las aguas, cualquiera que sea su origen, se opone al desarrollo de los mismos ó por lo menos lo debilita sensiblemente. Los espirilos del cólera asiático y los bacilos del carbunco se encuentran en el primer caso; pero, circunstancia digna de tomarse muy en cuenta, los bacilos de la fiebre tifoidea, según C. Fraenkel, se desarrollan tan fácilmente en una corriente de CO_2 como en el aire. Las aguas llamadas gaseosas no se hallan, pues, exentas de la más temible de las contaminaciones.

CAPÍTULO II.

DETERMINACIÓN DEL PESO TOTAL DE LOS SÓLIDOS.

SEGÚN lo dicho en el capítulo anterior, los higienistas están de acuerdo para fijar entre $0^{gr}100$ y $0^{gr}500$ por litro el total de sales diversas, en su mayor parte carbonato cálcico, que debe contener en disolución un agua calificada de potable. La determinación de este dato, ciertamente importante, es la primera operación que se presenta al tratarse del examen mineral, la cual es digna de hacerse con esmero, por no carecer de algunas dificultades prácticas, cuando se buscan datos numéricos exactos.

La exactitud que se persigue en este caso no es, por cierto, de una importancia intrínseca, pues la misma diferencia entre los números extremos apuntados más arriba está demostrando á las claras la poca ó ninguna influencia que tendrían errores aún de centigramos. Su importancia estriba en el gran valor comparativo que da á las cifras obtenidas, sea con relación á otras aguas, sea con el objeto de estudiar las variaciones periódicas de la misma agua ensayada. Es de esta manera indispensable proceder científicamente, basando el procedimiento en la precisión de las medidas, de cualquier linaje que ellas sean.

Pero, como todo valor numérico de una cantidad física se halla más ó menos alterado á causa de los errores de observación, de ahí que para calcular el valor más aproximado no baste por lo común una sola determinación del dato que se busca, sino una serie de ellas. Cuando en concepto del observador todas estas determinaciones separadas merecen igual grado de confianza, entonces la media aritmética de la serie representa el valor más probablemente cercano á la realidad. Conviene observar á este propósito, como dice Kohlsrauch,* que es de todo punto inadmisible excluir arbitrariamente de una serie de observaciones algún número de los obtenidos, tan sólo porque no concuerda con la mayoría. La probabilidad de que este número venga á aumentar el error queda neutralizada por el procedimiento mismo de tomar la media aritmética, puesto que, aislado entre otros muchos, no puede ejercer sino pequeña influencia sobre el valor medio.

Hecha esta prevención, que debe darse por extensiva á todas las determinaciones análogas á la presente que entran en el estudio de las aguas, pasamos á los detalles de la operación.

Toma de las muestras de agua.—La determinación del peso total del residuo fijo de las aguas no exige tantas precauciones en el lavado de los frascos receptores de las muestras como cuando se trata de averiguar la cantidad de sustancia orgánica, ó de hacer un estudio ó la simple cuenta de los microorganismos. Como método general, recomiéndase más bien ser rigorista en estas materias; y aún, la limpia preliminar del frasco de vidrio que servirá para recoger una muestra

* *Physical Measurements.* Edición inglesa, p. 1.

de agua, limpia que se hará con unos cuantos centímetros cúbicos de ácido sulfúrico, seguida de repetidos enjuagues con agua común, será regla que debe seguirse. Un último lavado con agua de la misma por ensayar, no está de más como operación final. En cuanto al tapón del frasco, debe de ser esmerilado; si ello no fuese posible, uno de corcho bien limpio bastará.

Todas estas operaciones que parecen sin importancia, la tienen, y mucha, en ciertas ocasiones. Para no citar sino un ejemplo, diremos que si los resultados obtenidos pareciesen extraordinarios por exceso ó por defecto habrá, es claro, una preocupación menos,—la referente á un imperfecto lavado; y la atención podrá dedicarse á averiguar por otro lado las causas de posible error.

En cuanto á la cantidad de agua, no sólo para esta determinación sino para las otras que entran en el examen mineral, debe decirse que conviene no baje de un litro; de este modo habrá suficiente líquido para repetir, si fuese necesario, una misma determinación, ó para llevar á cabo varias á la vez. Para el conjunto de los diversos ensayes, la cantidad indicada, sin embargo, es insuficiente; y como generalmente la operación de averiguar la cantidad de sólidos del agua, no es una operación aislada, sino que además, trae consigo el ensaye hidrotimétrico, la averiguación del cloro y del ácido nítrico, etc., etc., diremos que nada es más conveniente, siempre que se pueda, que tener para las muestras, frascos de 5 litros de capacidad, más ó menos.

Utiles necesarios.—Una buena balanza y una cápsula ó crisol de platino son los dos principales elementos requeridos; objetos necesarios pero de menor impor-

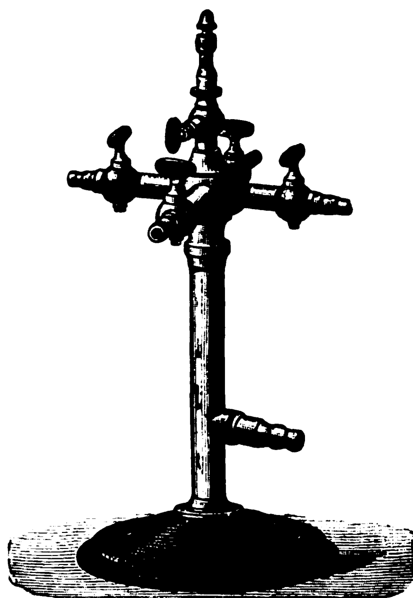


Fig. 1.—Candelabro para la distribución del gas.

tancia son un baño de maria, una estufa y un desecador. Diremos también (aunque no se trate de un elemento peculiar á la determinación de los sólidos, sino de uno que entra directamente en todas las operaciones que comprende el estudio de las aguas) que como se requieren, á veces, simultáneamente varios focos de calor, nada llena más fácil, si no más convenientemente esta necesidad, que un candelabro de distribución (Fig. 1). Cuando se trata de determinar el residuo de más de una muestra á la vez, suelen juntarse estas tres operaciones: evaporación de líquido, calefacción de la estufa y enrojecimiento del crisol para separar la materia orgánica volátil.

Balanza.—Como la balanza es en el examen químico de las aguas, y especialmente para la determinación que nos ocupa, lo que el microscopio en el examen bacteriológico, esto es, un instrumento de cuya bondad y debido manejo no se puede prescindir sin menoscabo de la exactitud ó veracidad de los resultados, creemos útil apuntar algunas observaciones sobre el mejor modo de emplearla para adunar la rapidez con la precisión. Si es verdad que ésta crece con el incremento de sensibilidad que se da á la balanza mediante trasportación hacia arriba del centro de gravedad, por ejemplo, no es menos cierto que el tiempo de cada oscilación crece también proporcionalmente, lo que hace más larga y dificil en cada pesada, la tarea de llevar el fiel de la balanza al cero de la graduación. Si la balanza de que se dispone es de la forma antigua, que ya tiende á desaparacer de todos los laboratorios, es decir de brazos largos, procúrese una vez por todas que la duración de cada vaivén dure entre 10 y 15 segundos; y entre 5 y 10 segundos si es de brazos cortos. Oscilaciones más lentas sólo acarrean pérdidas de tiempo y dificultades en el ajuste. Conseguido el movimiento oscilatorio de duración más apropiada, procúrese en seguida, hacer coincidir el fiel con el cero, ó bien que llegue á oscilar igualmente de cada lado de éste. Dase el último toque al ajuste, valiéndose de los tornillos delanteros (*o*, *o*, Fig. 2) en que descansa la plataforma; acortando uno, tanto como se alarga el otro, hasta conseguir la posición deseada.

El diagrama (Fig. 2) muestra la forma y la disposición de una moderna balanza de análisis, de brazos cortos.

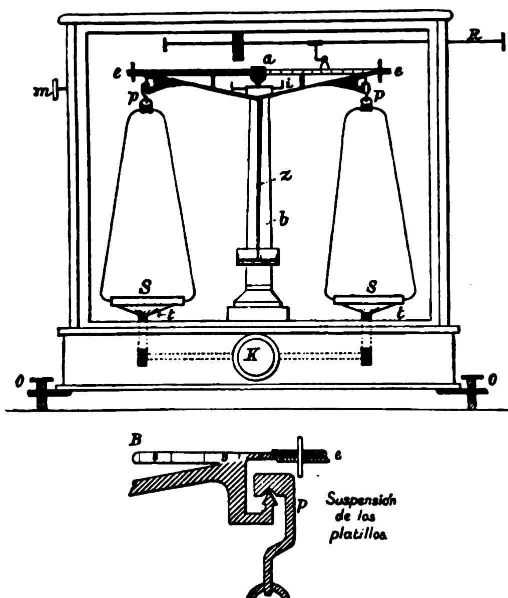


Fig 2.*—Balanza de análisis.

e e, cruz de la balanza; *a* cuchilla de suspensión de la cruz; *z*, fiel: su posición en el punto cero se consigue, primero mediante ligero movimiento de las tuercas en las roscas *e e* (*ver* anexo B), y, segundo, dando un pequeño toque á los tornillos *o o* que han servivo para nivelar la balanza; *b*, columna hueca pordonde pasa el vástago en que descansa la cuchilla, cuando se levanta aquel haciendo girar el tornillo K;† *t t*, pinceles á guisa de soportes elásticos para los platillos SS, con el fin de no gastar las cuchillas

* Figura tomada del excelente manual de Emmerich y Trillich: *Anleitung zu Hygienischen Untersuchungen.* Münich, 1889.

† Recomendamos de preferencia las balanzas que tienen esta pieza del mecanismo regulador á la izquierda de la plataforma; lo que permite al operador una posición menos forzada y, por consiguiente, mayor rapidez y seguridad en el manejo de la balanza.

de las suspensiones *pp* ; *i*, doble soporte en que descansa la cruz durante el estado de reposo de la balanza, para evitar el desgaste de la cuchilla *a* ; *m*, tornillo para sujetar á una altura dada el bastidor de vidrio que forma la tapa delantera de la caja de la balanza ; R, varilla con gancho, por medio de la cual se corre á un lado ú otro del brazo dividido de la cruz, el miligramo de alambre de platino que sirve para estimar las fracciones de miligramo de peso.

Crisol ó cápsula de platino.—Para el objeto de evaporar una cantidad determinada de agua, el uno ó la otra servirán, con tal que tengan la capacidad debida ; la cual debe ser á lo menos de 30 centímetros cúbicos,



Fig. 3.—CRISOL DE PLATINO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RESIDUO FIJO.

si no se quiere ver muy exagerados los errores de observación. Verdad que la evaporación de gran cantidad de agua, en un recipiente de gran tamaño, no evita las causas de esos errores sin dar lugar á otras ; por eso un crisol ó cápsula de 50 á 70 cc. (50 á 70 gramos de platino) es tal vez lo más conveniente, y conciliable al mismo tiempo con la economía.

Para la buena conservación del recipiente de platino deben observarse las siguientes precauciones :

1ª, no usarlo para la ignición de compuestos metálicos

reducibles, compuestos arsenicales, álcalis caústicos, nitratos alcalinos ni fosfatos reducibles y fusibles ;

2ª, después de usado en cada determinación de los sólidos de las aguas, limpiarlo y pulirlo con arena finísima, cuidadosamente tamizada, la cual, gracias á la redondez de las partículas, bruñe el platino sin rayarlo ;

3ª, no ponerlo nunca en contacto con llama humeante, ó que por el color revele la presencia del zinc ó del cobre ; y

4ª, no colocarlo nunca en contacto de soportes de hierro galvanizado, de bronce ó de cobre, mientras se le caliente. El platino y el asbesto, y el vidrio cuando la temperatura lo permite, son los mejores materiales para soportes. Un triángulo de alambre grueso de platino, como el del desecador (Fig. 4) es lo más cómodo.

Baño de maría.—Muy pocas observaciones hay que hacer sobre este sencillo aparato aplicado á la determinación de los sólidos. Todo lo que se busca con su empleo es que el crisol de platino esté en contacto con el agua hirviente del baño ó más bien del vapor de la misma, y no en contacto con la llama, para obtener una evaporación activa del agua, sin llegar á la ebullición. Por consiguiente, una cápsula de porcelana, con un soporte *ad hoc* para el crisol, puede formar todo el aparato, aparte del soporte y foco calorífico respectivo. Si se dispone de un baño de maría de nivel constante, tanto mejor.

Estufa.—Fuera de las muy conocidas, descritas en todos los tratados de química práctica, pueden emplearse para la desecación completa del residuo, despúes de concluida la evaporación en el crisol de platino, las estufas esterilizadoras usadas en bacteriología, y descritas en la PARTE III.

Desecador.—No es de necesidad indispensable, pero conviene su empleo, para enfriar el crisol después de sacado de la estufa, y antes de llevarlo á la balanza, sin dar lugar á la absorción de vapor de agua de la atmósfera, si hubiere algun cuerpo muy higroscópico en el residuo.

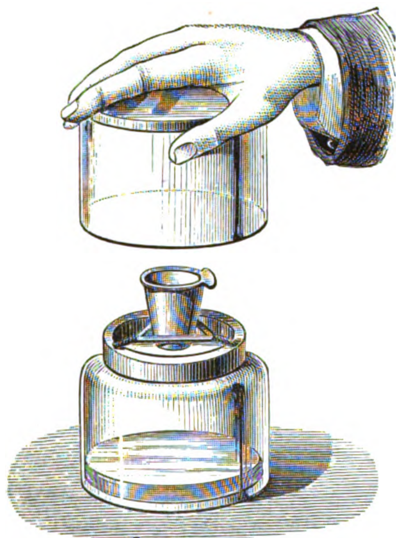


Fig. 4.—DESECADOR DE FRESENIUS.

La fig. 4 representa uno de uso muy cómodo. Consta de un receptáculo de vidrio en cuyo fondo se puede poner la sustancia desecante, p. ej., ácido sulfúrico. Para hacer más eficaz el ajuste, se recubren ligeramente con vaselina los rebordes que deben quedar en contacto. Inútil es agregar que cualquier otro desecador de los muchos modelos conocidos ó que se puedan improvisar en el laboratorio, servirá para el mismo objeto.

Detalles de la operación.—Ajustada la balanza, se prepara la cápsula ó crisol de platino en que debe efectuarse la evaporación de los 50 ó más centímetros cúbicos de la muestra de agua. No conviene bajar mucho de esta cantidad, porque de lo contrario no sólo crece el error propio de la observación sino que también se halla multiplicado por un número mayor de veces al relacionar el cálculo á un litro de agua. Cualquiera que sea el utensilio de que se disponga, lo primero es lavarlo con ácido sulfúrico y después con agua caliente, en el supuesto de que ya ha experimentado la limpia con arena de que se habló anteriormente, á causa de haber servido á una determinación precedente; en seguida se le seca cuidadosamente con un paño limpio y se deja enfriar invertido sobre una superficie perfectamente libre de polvo. Una vez en estas condiciones se le pesa fielmente en la balanza, y se vierten en él 50cc., por ejemplo, medidos con toda exactitud, del agua cuyo residuo se va á determinar. Practícase la evaporación en el baño de maría, según lo ya indicado; ó bien, aún, en baño de arena muy limpia, cuidando en este caso de regular el foco de calor, de suerte que la evaporación, llevada á cabo hasta la sequedad, se efectúe más bien con cierta lentitud. Evaporado totalmente el líquido se prolonga todavía la calefacción, elevándola á 100°, por 10 á 15 minutos, de preferencia en la estufa, á fin de estar seguros de que no restan vestigios de humedad; y, bien seco y limpio exteriormente el crisol, se le coloca en el desecador hasta el momento de llevarlo á la balanza y de pesarlo con las precauciones debidas.

La diferencia entre este peso y la tara del crisol representa evidentemente el peso del residuo sólido

de los 50 cc. de agua evaporada, de donde es fácil deducir la cantidad correspondiente á un litro.

EJEMPLO.

56 cc. de agua de El Salto (Valparaíso, 1886) fueron evaporados en un crisol de platino con sujeción á las indicaciones precedentes:

Peso del crisol con el residuo . .	57·1110 gramos.
Peso previo del crisol limpio . . .	57·1046 „
Peso del residuo en 56 cc. de agua. .	0·0064 gramo.

Lo que corresponde á $\frac{0{\cdot}0064 \times 1000}{56} = 0{\cdot}114$ gramo por 1 litro.

Si sólo se dispone de un recipiente pequeño de platino, capaz de contener, digamos 30 cc., se puede también hacer la determinación del peso con el sacrificio de un poco de tiempo. El mejor método en tal caso será el siguiente: (1) evaporar 30 cc. de agua y determinar el peso del residuo; (2) agregar sobre éste otros 30 cc. de la misma agua y, terminada la evaporación, averiguar el nuevo peso. Puede verificarse de este modo si concuerdan, como deben de concordar, las dos determinaciones parciales, cuya suma formará el total buscado.

Todavía, á falta de utensilio de platino, pero únicamente con el fin de llegar á resultados aproximados, se puede echar mano de un pequeño matraz ó cápsula de vidrio de Bohemia, y evaporar 100 ó 150 cc. del agua. Pero, siendo el vidrio sustancia muy higroscópica, el vapor de agua de la atmósfera condensado durante el enfriamiento, tanto en la superficie externa como en la interna del recipiente, introducirá un error considerable en el resultado, si no se tiene la precaución de secar el matraz ó la cápsula á más de

100° en la estufa, y de averiguar su peso antes de que baje mucho la temperatura. Es evidente á todas luces que efectuando esta última operación á temperatura muy superior á la del ambiente se producen causas de error, y perturbaciones en el manejo de una balanza delicada. A pesar de todo, y á falta de otro medio, el método descrito puede ser de utilidad en ciertas ocasiones, visto que sus resultados tienen aproximación suficiente.

Ejemplos.

En un matraz de vidrio de Bohemia fueron evaporados 150 cc. de agua de El Salto, tomada en lugar diferente al de la muestra anterior, y en distinta fecha.

1.

Peso del matraz, enfriado al aire, después de la evaporación	38·549 gramos.
Peso previo del matraz limpio y *bien seco*	38·504 „
Diferencia	0·045 gramo.

Lo que corresponde á $\frac{0{\cdot}045 \times 1000}{150} = 0{\cdot}300$ gramo por 1 litro; resultado manifiestamente erróneo, debido al vapor de agua condensado sobre el vidrio.

2.

Peso del matraz, *recién secado* en la estufa	38·525 gramos.
Peso previo del mismo, limpio é igualmente secado	38·504 „
Diferencia	0·021 gramo.

Lo que corresponde á $\frac{0{\cdot}021 \times 1000}{150} = 0{\cdot}140$ miligramo por litro.

Mientras tanto, el peso exacto del residuo de la misma agua, averiguado por evaporación en crisol de platino, era de 0·151 gramo por litro. La diferencia, como puede verse, no es tan notable.

Observaciones sobre los resultados.—Si se toman dos muestras de agua en puntos muy distantes de la misma red de cañerías de una ciudad, y en el mismo día, es muy posible que los resultados de esta determinación no concuerden sensiblemente entre sí. A lo menos en Valparaíso, hemos notado una diferencia constante, aunque pequeña, entre el peso total de los sólidos en el agua de los dos barrios extremos de la población: en el más alejado del depósito de distribución, el peso del residuo, en una serie de determinaciones, fué siempre menor que el correspondiente á otra serie de determinaciones hecha con agua del barrio más cercano. Los resultados del ensaye hidrotimétrico concordaban casi exactamente con los anteriores, en cuanto á diferencia de valores para cada extremo de la localidad. Citamos el hecho, que puede ser meramente accidental, si no debido á la influencia de la cañería de hierro, *v. gr.*, tan sólo para hacer ver cómo, dentro de ciertos límites, la exactitud de las cifras no puede tener una importancia absoluta, á menos que se trate de utilizarlas para un estudio comparativo.

Wanklyn* recomienda aprovechar la operación de averiguar el peso total de los sólidos del agua para un examen cualitativo del residuo, y con el fin de ver si consiste principalmente de carbonatos (por lo general, carbonato cálcico), cuya presencia en el agua es muy útil conocer. Para ello no hay más que agregar sobre el residuo unas cuantas gotas de ácido clorhídrico y observar si se produce una viva efervescencia.

Por último, solamente nos resta observar que, conociendo el peso del residuo se puede, en muchos casos, verificar por su medio si las determinaciones corres-

* *Loc. cit.*, pág. 21.

pondientes al cloro y á las sales de calcio—métodos de que trataremos en los capítulos siguientes—han sido bien hechas. A este fin calcularemos de un modo aproximado el peso de los cloruros, poniendo en vez del peso del cloro el correspondiente al cloruro de sodio; y calcularemos también, de un modo análogo, el carbonato de calcio. El todo nos representará un rudimento de análisis mineral del agua, que en la gran mayoría de las circunstancias, hará innecesario el análisis completa.

EJEMPLO.

Agua de El Salto, 1886.

Residuo, por litro		114 miligramos.
Cloruros (30 mg. de Cl) .	50 miligramos.	
Sales cálcicas (Carbonato)	55 „	105 „
Diferencia		9 miligramos.

Que pueden representar el complemento de los compuestos del residuo.

Si la suma de los cloruros y de las sales cálcicas fuese igual á 114 miligramos ó más que esto, deduciríase á la simple vista que había ocurrido error en las determinaciones, ó por defecto en la del residuo, ó por exceso en las del cloro y sales de calcio y de magnesio.

RESIDUO DE ALGUNAS AGUAS POTABLES.

	Gramos por litro.
Valparaíso (El Salto) diciembre, 1886 .	0·140
Id. id. id., 1887 .	0·216
Santiago (Quebrada de Ramón), 1887 .	0·100
Lima (Cañería), 1884	0·288
Londres	0·265

	Gramos por litro.
Manchester	0·066
Glasgow	0·033
Paris (Vanne)	0·236
Basilea (Rhin)	0·169
Ginebra (Ródano)	0·182
Jena (Mühlthal)	0·350

CAPÍTULO III.

DETERMINACIÓN DE LA DUREZA—ALCALINIDAD.

I. DETERMINACIÓN DE LA DUREZA.

LA determinación de la dureza de un agua, ó si se quiere su ensaye hidrotimétrico * consiste en averiguar, principalmente, en qué proporción entran en el residuo de que nos ocupámos en el capítulo anterior, las sales de calcio y de magnesio. Aprovéchase con este objeto la precipitación, en forma de oleatos, margaratos y palmitatos insolubles, de las sales mencionadas en presencia de una disolución alcohólica de jabón, la cual no produce espuma abundante y permanente, al agitarse la mezcla, en tanto no se haya neutralizado toda acción. En realidad, ésta no es exclusiva de la cal y la magnesia,

* El Dr. inglés Clark fué el primero en aplicar la acción característica de las sales de calcio y de magnesio del agua sobre el jabón, á la medida de la dureza de aquella. Boutron y Boudet, junto con perfeccionar el método de Clark diéronle el nombre de *Hidrotimetria*, (del griego: *ὕδωρ*, *agua*; *τιμὴ*, *valor*; *μετρον*, *medida*) nombre de exactitud muy discutible ateniéndonos á la etimología, pero útil por la brevedad con que expresa una serie de diversas operaciones. *Véase:* BOUTRON ET BOUDET. *Hydrotimetrie: nouvelle méthode pour déterminer les proportions des matières minerales en disolution dans les eaux de sources et de rivières.*—Paris, G. Masson, 1882.

puesto que también otros compuestos salinos, el anhídrido carbónico y el agua misma tienen su parte de acción, aunque pequeña. De donde sacamos que el verdadero significado de "dureza" es menos restringido que lo hemos dado á entender más arriba; pero, como el efecto se debe principalmente á las sales cálcicas y magnésicas, y lo que más nos interesa después de todo es conocer la proporción de ellas en el agua, concretaremos el examen á su determinación.

Para mayor claridad conviene fijar, desde luego, las ideas acerca de las tres maneras de considerar la dureza del agua y que son:

Dureza total, ó sea el conjunto de todas las acciones señaladas en el párrafo anterior.*

Dureza transitoria, la debida á los carbonatos de calcio y de magnesio en disolución, gracias á la existencia de CO_2 en el agua, y que por lo mismo desaparece después de una ebullición prolongada de ella; y,

Dureza permanente, la diferencia entre las dos anteriores, y que se debe á los sulfatos de calcio y de magnesio, no precipitados por la ebullición.

En vez de hablar de *grados* para espresar la dureza en cualquiera de estas formas, grados que en Inglaterra, Francia y Alemania tienen distinto valor, lo que basta para patentizar lo inconveniente del sistema, preferible es expresar el resultado en miligramos de carbonato de calcio por litro. Esto no impide en manera alguna deducir de tal dato, la dureza expresada en cualquiera de los grados de esos países, valiéndose de las sencillas

* Como la acción debida al agua misma y al CO_2, á más de ser pequeña carece de importancia higiénica, podemos designar bajo el mismo nombre de *dureza total*, únicamente la debida á los compuestos salinos.

fórmulas que damos más adelante. Es decir que si la acción se debe á diversos elementos, el resultado se representará siempre por la cantidad equivalente de carbonato cálcico que hubiera podido producirla en igual intensidad. Punto es este que se verá más claro al entrar en los detalles del procedimiento.

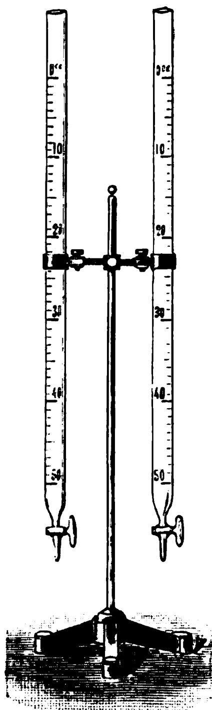


Fig. 5.—BURETAS GRADUADAS, PARA EL ENSAYE HIDROTIMÉTRICO.

Utiles y disoluciones necesarios. —Además de los útiles y de las disoluciones apuntados á continuación, peculiares al procedimiento, es indudable que son necesarios muchos otros objetos y productos diversos, que no mencionamos por suponer que deben existir en todo laboratorio; como ser: vasos de vidrio, cápsulas, embudos, probetas graduadas, lámpara de gas y de alcohol, agua destilada en abundancia, etc., etc. Fuera inútil agregar, por otra parte, que los utensilios descritos en seguida pueden ser reemplazados por otros, si no acaso tan cómodos, por lo menos tan servibles.

UTILES.

1. *Dos buretas* de 50 cc. ó más, graduadas en centímetros y décimos de centímetro cúbico (Fig. 5); una para la disolución cálcica y la otra para la de jabón.

2. *Dos frascos* (uno de repuesto) de tapa esmerilada, como de 100 cc. de capacidad cada

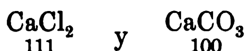
uno, graduados de 5 en 5 cc. Conviene distinguirlos por una banda de color diverso en cada cuello. Sirven para hacer la mezcla del agua con la disolución jabonosa.

Disoluciones.

1. *Disolución de cloruro cálcico*, $CaCl_2$.

Cloruro cálcico puro, fundido . .	1·110 gramo.
Agua destilada	1000 cc.

Esta disolución contiene por cada 1 cc. la cantidad de cloruro de calcio equivalente á un miligramo de carbonato, según se deduce de los pesos moleculares respectivos



$$\underset{111}{CaCl_2} \quad y \quad \underset{100}{CaCO_3}$$

Otro sistema más conveniente de prepararla, y que recomienda Wanklyn, consiste en disolver cuidadosamente un gramo de carbonato de calcio puro (mármol blanco pulverizado, p. ej.) en un pequeño exceso de ácido clorhídrico diluido, exceso que se neutraliza por el amoníaco. Dilúyese todo, seguidamente, en agua destilada, hasta completar un litro. Por este segundo método se evitan la dificultad y la causa de error que puede acarrear la operación de pesar tan pequeña cantidad de una sustancia delicuescente en sumo grado, como es el cloruro de calcio.

Si se quiere, aún, puede evitarse el empleo del cloruro de calcio sustituyendo esta sal por cualquiera otra en cantidad químicamente equivalente, y capaz de formar con los ácidos grasos del jabón una combinación insoluble: el cloruro de bario, por ejemplo. [Véase más adelante la tabla con algunas de estas equivalencias.]

2. *Disolución de jabón.*

Jabón de Castilla (raspaduras) . .	10 gramos.
Mezcla de 2 partes de alcohol y 1 de agua destilada	1000 cc.

En vez del jabón de Castilla puede usarse el jabón transparente de Pears, por las ventajas que ofrece su composición perfectamente uniforme. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que en disoluciones un poco más concentradas, tiende á producir una consistencia gelatinosa cuando la temperatura baja de 15°, en invierno, por ejemplo.

Procúrese disolver todo el jabón agitando la mezcla; filtrese. La filtración es lenta y fastidiosa á veces, á causa de cierta viscosidad del líquido. Cada centímetro cúbico de la disolución está calculada para que pueda neutralizar un centímetro cúbico de la disolución cálcica, es decir, un miligramo de carbonato de calcio ó su equivalente. Mas, en la práctica, esta coincidencia no se verifica á causa de las alteraciones de la disolución jabonosa.

Conviene por esto prepararla tomando una cantidad mayor de jabón que la indicada, de modo que resulte antes más concentrada que no más débil de lo necesario. En tal caso llegará á dársele su grado normal con agregarle la cantidad de agua que le falte. Si 10 cc. de la disolución cálcica, p. ej., han sido neutralizados con sólo 8 cc. de la disolución jabonosa, esto es, si á cada 1 cc. de la primera corresponde 0·8 cc. de la segunda, habrá entonces que agregar al jabón 25 % de agua; y de esta suerte se tendrá la relación más cómoda, aunque no indispensable, de centímetro á centímetro.

Detalles de la operación.—Llena una de las buretas con la disolución cálcica y con la de jabón la otra, empiézase por verificar la fuerza de la disolución jabonosa observando si cada centímetro cúbico de ella neutraliza uno de la disolución de cloruro. No está de más recomendar aquí una manera precisa de hacer las lecturas de las graduaciones, pues de otro modo es muy fácil cometer errores que pueden alcanzar á $\frac{1}{10}$ de cc. Es necesario tomar como línea fija, cada vez, la base y no la línea superior del reborde anular formado por la capilaridad del líquido (Fig. 6)*. En la bureta representada por la figura adjunta, la división 0 corresponde al nivel que debe tomarse en cuenta. Otro detalle: conviene parafinar ó vaselinar ligeramente las llaves de vidrio de las buretas, precaución sobre todo necesaria para la que contiene el licor cálcico.

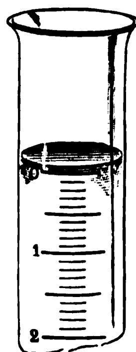


Fig.6.—Menisco formado por la capilaridad.

1º. *La disolución de jabón tiene su fuerza normal.* La marcha de la operación en este caso es la siguiente: Antes del ensaye definitivo se hace uno preparatorio que servirá para dar una idea acerca de la dureza del agua que se va á ensayar, y de esta manera proceder con mayor seguridad en la determinación final. Mídense con ese objeto 65 cc.† de la muestra de agua cuyo examen

* Es mucho más fácil una lectura exacta en las nuevas buretas opacas de vidrio esmaltado, de Hicks (10 Hatton Garden, Londres), en las cuales sólo hay una franja transparente con las divisiones. Las buretas de Guilbert-Martin, de Paris, también son superiores á las ordinarias, por tener siquiera una banda de esmalte blanco del lado opuesto al de la escala graduada.

† Véase más adelante la razón por que se indican 65 cc.

se practica, en uno de los frascos graduados, y de una vez se le agregan digamos 5 cc. de la disolución alcohólica de jabon.* Se agita la mezcla y se observa si la espuma formada en el primer momento desaparece ó no al dejar el frasco en reposo por algunos instantes. Si lo primero, agréganse paulatinamente nuevas dosis de jabón, hasta conseguir una espuma abundante y duradera; si lo segundo, quiere ello decir que la determinación debe empezarse con dosis menor de 5 cc.

Distínguese la prueba definitiva del ensaye preparatorio, el cual por otra parte no siempre es indispensable, nada más que en el mayor cuidado con que se va agregando la disolución jabonosa á fin de no emplear de ella sino la cantidad estrictamente necesaria para producir el efecto buscado: la persistencia de abundante espuma por cinco minutos á lo menos. El número de centímetros cúbicos gastados representará el de miligramos de carbonato cálcico (ó equivalente) contenidos en los 65 cc. de agua. Para averiguar lo correspondiente á un litro no habrá sino que multiplicar el resultado por 15·385.

2º. *La disolución de jabón no tiene la fuerza debida.* En el supuesto de que un centímetro cúbico de la disolución jabonosa no alcance á neutralizar un centímetro de la de calcio, cosa muy probable, dos caminos quedan que seguir: (1) ó se rectifica la fuerza de la disolución, ó bien, (2) se determina por una operación análoga a la recién descrita, qué cantidad exacta de la

* Como regla, aunque haya motivos para suponer que el agua pueda ser muy dura, no debe agregarse de un golpe la cantidad de jabón que se crea necesaria para completar la reacción, porque los resultados, según Frankland, no son entonces tan exactos como si se emplea la agregación paulatina del reactivo.

disolución jabonosa neutraliza un centímetro cúbico de la disolución cálcica, cantidad que para más cómoda referencia llamaremos una " medida de jabón ". En el primer caso ya se sabe como proceder ; en el segundo la " medida" obtenida reemplaza al centímetro normal, y la marcha de la operación es la misma. Este segundo método nos parece más general, como quiera que también es aplicable al caso contrario, es decir, el de una disolución jabonosa un poco más concentrada de lo debido ; por eso dámosle la preferencia, aunque para aplicarlo sea necesario efectuar cada vez la corrección de estilo.

Dijimos al principio que, abstracción hecha de las sales que encierra, el agua misma absorbe por acción propia cierta cantidad de jabón antes de dar lugar á la formación de persistente y abundante espuma. El volumen de agua que en tal concepto equivale á un miligramo de carbonato cálcico es como de 65 á 70 cc.* Luego, el número de medidas de jabón necesarias para neutralizar 65 cc. de un agua cualquiera representa la *dureza total;* y el mismo número disminuido en una unidad, los miligramos de carbonato de calcio. Efectuando, pues, el ensaye con dicho volumen de agua no habrá necesidad de corrección alguna, sino en el caso de que la disolución jabonosa empleada no tuviera la fuerza normal.

EJEMPLO.

Tomamos de los apuntes de laboratorio la siguiente determinación de la dureza del agua de El Salto en diciembre de 1886 ; se trata en este caso de una doble corrección.

* Determinación experimental, variable dentro de ciertas circunstancias de temperatura y otras que sería difícil precisar. Hemos adoptado 65 cc. por que en nuestro caso fué ese el valor medio obtenido con el agua destilada que sirvió siempre de término de comparación.

La media aritmética de cinco determinaciones parciales para averiguar la fuerza de la disolución jabonosa fué 1·82 cc. Es decir, cada "medida de jabón" estaba representada por este número. En seguida cinco determinaciones dieron para 65 cc. de agua un término medio de 8·45 cc. de disolución jabonosa absorbida, ó lo que es lo mismo $\frac{8{\cdot}45}{1{\cdot}82} = 4{\cdot}64$ medidas cada vez. Claro es que este número no representa la dureza que hemos convenido en expresar en carbonato cálcico, pues habrá que rebajar de él la parte correspondiente á los 65 cc. de agua, ó sea una medida, quedando entonces solo 3·64 para el carbonato.

Luego, dureza del agua de El Salto, espresada en miligramos de $CaCO_3$ por litro

$$= \frac{1000}{65} \times 3{\cdot}64 = 56 \text{ miligramos.}$$

Diversos grados hidrotimétricos.—Tablas comparativas.

1º. El grado de dureza inglés, según el método de Clark, indica sencillamente el número de *granos* de $CaCO_3$ contenidos en un galón del agua ensayada; por lo tanto, 1 grado = 65 miligramos (1 *grano*) por galón, ó sean 14·3 miligramos por litro. Como El Salto tiene 56 miligramos luego:

Grado hidrotimétrico ó de dureza de la misma agua según el sistema de Clark, $\frac{56}{14{\cdot}3} = 3^\circ{\cdot}92.$

2º. El grado de dureza francés representa 10 miligramos de $CaCO_3$ por litro de agua, de lo cual resulta entonces:

Grado hidrotimétrico de la misma agua, según el sistema francés, $\frac{56}{10} = 5^\circ{\cdot}60.$

3º. El grado de dureza alemán indica el número de centigramos de cal, CaO, por litro de agua. En los

56 miligramos de carbonato cálcico del ejemplo anterior hay 31·4 de óxido de calcio, ó sean 3·14 centigramos:

Grado hidrotimétrico según el sistema alemán, 3°·14.

Tal variedad de sistemas para expresar la dureza ó grado hidrotimétrico de las aguas, es de lo más arbitrario que cabe, tratándose de una determinación de carácter científico. Convendría por lo mismo valerse mejor del sistema más general, y tan sencillo como cualquier otro, de expresar esa dureza por el número de miligramos de $CaCO_3$, ó sales equivalentes, contenidos en un litro de agua.

Si representamos por M el número de miligramos obtenidos, fácil nos será hacer cualquiera de las reducciones, mediante las siguientes sencillísimas fórmulas, en las cuales los coeficientes numéricos 0·07, 10, y 17·86 han sido deducidos con atención á los datos que preceden:

Grados hidrotimétricos ingleses $= M \times 0{\cdot}07$
Id. id. franceses $= M : 10$
Id. id. alemanes $= M : 17{\cdot}86$

TABLA HIDROTIMÉTRICA COMPARATIVA.

Miligramos de $CaCO_3$ por litro.	Grados hidrotimétricos franceses.*	Grados hidrotimétricos ingleses.†	Grados hidrotimétricos alemanes.‡
10	1·	·70	·56
11	1·10	·77	·616
12	1·20	·84	·672
13	1·30	·91	·728
14	1·40	·98	·784
15	1·50	1·05	·840

* 1 parte de $CaCO_3$ en 100,000 de agua.
† 1 parte de $CaCO_3$ en 70,000 de agua.
‡ 1 parte de CaO en 100,000 de agua.

Miligramos de $CaCO_3$ por litro.	Grados hidrotimétricos franceses.	Grados hidrotimétricos ingleses.	Grados hidrotimétricos alemanes.
16	1·60	1·12	·896
17	1·70	1·19	·952
18	1·80	1·26	1·008
19	1·90	1·33	1·064
20	2·	1·40	1·12
25	2·50	1·75	1·40
30	3·	2·10	1·68
35	3·50	2·45	1·96
40	4·	2·80	2·24
45	4·50	3·15	2·52
50	5·	3·50	2·80
55	5·50	3·85	3·08
60	6·	4·20	3·36
65	6·50	4·55	3·64
70	7·	4·90	3·92
75	7·50	5·25	4·20
80	8·	5·60	4·48
85	8·50	5·95	4·76
90	9·	6·30	5·04
95	9·50	6·65	5·32
100	10·	7·	5·60

Puede ser de utilidad en algunos casos la siguiente tabla, que demuestra la proporción en que cada miligramo de $CaCO_3$ es reemplazado por otras compuestos con acción hidrotimétrica :

Sales anhidras.			Miligramos.
Carbonato de calcio,		$CaCO_3$ . .	1·
Cloruro de	id.,	$CaCl_2$ . .	1·11
Oxido de	id.,	CaO . . .	·56
Sulfato de	id.,	$CaSO_4$ . .	1·36

Sales anhidras.		Miligramos.
Oxido de magnesio,	MgO	·40
Cloruro de id.,	$MgCl_2$	·95
Carbonato de id.,	$MgCO_3$	·84
Sulfato de id.,	$MgSO_4$	1·24
Cloruro de bario,	$BaCl_2$	2·12
Id. con 2 equivalentes de agua de cristalización,		2·44

Determinación particular de la dureza magnesiana.— Los resultados obtenidos por medio de los procedimientos descritos expresan la acción completa de todos los elementos capaces de destruir cierta cantidad de jabón en un litro de agua ; ó bien, hablando con menos estrictez, la acción de las sales de calcio y de magnesio, ya que la correspondiente al resto de los cuerpos es insignificante al lado de aquella.

Ahora, si se quiere determinar qué proporción corresponde á los compuestos magnésicos, prescindiendo de la cal, el método que se impone es el de precipitar todas las sales cálcicas existentes en el agua en examen, y averiguar en seguida la dureza según queda descrito ; esto es, averiguar á cuántos miligramos de $CaCO_3$ por litro equivale la acción neutralizadora de la magnesia. Los diversos compuestos que por abreviación designamos bajo el nombre que precede, quedan así determinados, no en miligramos de peso, sino en función del carbonato cálcico, cuerpo que hemos convenido en adoptar como término de comparación para todas las determinaciones hidrotimétricas.

Los detalles de la operación son los siguientes : á cierta cantidad de la muestra de agua se agrega oxalato de amonio en la proporción de 1 gramo por litro ; se sacude la mezla, se deja reposar por cierto tiempo ; se

filtra y en seguida se opera con la cantidad de agua que en caso de ser destilada equivaliera por su acción hidrotimétrica á 1 miligramo de $CaCO_3$, es decir que consumiera antes de producir espuma permanente, una medida de jabón (60 cc. á 70 cc., de acuerdo con lo expuesto más atrás). El número de medidas de jabón, menos 1, representará la dureza magnesiana expresada en miligramos de carbonato cálcico.

EJEMPLO.

65 cc. de agua de El Salto privada de cal por la acción del oxalato de amonio absorbieron 8·5 medidas de disolución jabonosa, lo que representa, en $CaCO_3$ . . .	8·50	miligramos
Menos acción correspondiente al agua . .	– 1·00	„
Total para 65 cc. . .	2·50	„
Luego á 1 litro corresponden $\frac{2{\cdot}50 \times 1000}{65} =$.	38·46	miligramos

Lo que puede reducirse á cualquiera de los diferentes grados, mediante las tablas que preceden.

Hay que comprobar por medio del papel reactivo la ausencia de ácido libre en el líquido filtrado, á fin de estar seguros antes de hacer el ensaye hidrotimétrico, de la remoción completa de la cal. Debe tenerse muy en cuenta, además, en la determinación de la magnesia, que la acción de sus sales sobre la disolución jabonosa no es tan rápida como en el caso de la cal; por lo que debe procederse cautelosamente, á fin de no dar por terminada le reacción al cabo de unos cuantos minutos, y sólo en vista de no haber desaparecido la espuma. Conviene aguardar á lo menos diez minutos.

Observando las precauciones debidas, la determinación de la magnesia por este medio es susceptible de bastante exactitud, y de una rapidez que contrasta con el largo

tiempo exigido por otros procedimientos. La única dificultad depende de la filtración, á causa de la extrema tenuidad del oxalato cálcico precipitado. Por eso conviene dejar en reposo por algunas horas, antes de filtrar, el agua tratada por el oxalato de amonio.

II. Alcalinidad.

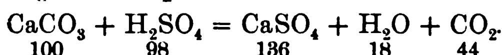
Por alcalinidad del agua se entiende la propiedad que tiene de neutralizar los ácidos en virtud del carbonato de calcio que encierra. Gracias á los métodos que hemos descrito, puede apreciarse la dureza cálcica del agua separada de la correspondiente á la dureza magnesiana; pero lo que importa en el concepto higiénico, según se demuestra en el Capítulo I., no es saber la mayor ó menos cantidad de los compuestos de calcio sino determinar qué proporción corresponde al carbonato, sustancia útil ó por lo menos inofensiva, y cuál al sulfato, sustancia decididamente nociva.

Detalles de la operación.—Se necesitan las siguientes útiles y disoluciones para determinar la alcalinidad del agua por el procedimiento que recomienda Mohr:

1. Una cápsula de porcelana, como de 1000 cc. de capacidad.
2. Una bureta con su soporte, graduada en décimos de cc.
3. Varillas ó agitadores de vidrio.
4. Disolución $\frac{1}{10}$ normal de ácido sulfúrico.
5. Disolución de cochinilla, que se prepara moliendo la cochinilla seca del comercio, y dejándola macerar en agua, á un suave calor, por cierto tiempo. A esta disolución de proporciones arbitrarias se agrega un poco de alcohol y después se

filtra, quedando lista para el uso. Con el tiempo se descompone, á causa de ser un medio de cultivo apropiado para ciertos microorganismos abundantes en el aire.

El principio en que se funda la determinación es el siguiente: del peso molecular de $H_2SO_4 = 98$ se deduce que la disolución normal de este ácido, en estado puro, debe contener $\frac{98}{2} = 49$ gramos de H_2SO_4 por litro; luego cada 1 cc. de la disolución *decinormal* contendrá 4·9 miligramos, y 2 cc. contendrán 9·8 miligramos, que serán capaces de saturar 10 miligramos de carbonato cálcico, según se desprende de la ecuación



$$\underset{100}{CaCO_3} + \underset{98}{H_2SO_4} = \underset{136}{CaSO_4} + \underset{18}{H_2O} + \underset{44}{CO_2}.$$

Agregando unas cuantas gotas de la disolución de cochinilla á 500 gramos, *v. gr.*, del agua que se va á ensayar, y que se han vertido de antemano en la cápsula de porcelana, ó en otro recipiente adecuado, se logra determinar exactamente el instante preciso en que todo el $CaCO_3$ del medio litro de agua, ha sido descompuesto por el ácido sulfúrico. En efecto, en disolución alcalina la cochinilla (ácido carmínico) es roja, y en disolución ácida es amarillenta, sin que, al revés de lo que sucede con el tornasol, sea modificada su coloración por el anhídrido carbónico. La reacción es excesivamente delicada, de tal suerte que apenas saturado el $CaCO_3$, una gota más de la disolucion decinormal de ácido sulfúrico hace cambiar la coloración decididamente roja del agua, en una coloración decididamente amarillenta. La intensidad del tinte que se haya dado al agua por medio de la cochinilla, no influye en la delicadeza de la indicación.

CAPITULO IV.

DETERMINACIÓN DE LOS METALES NOCIVOS.

La determinación de ciertas sales venenosas ó que por lo menos pueden ejercer á la larga acción tóxica sobre el organismo, aunque presentes en mínima cantidad en el agua empleada diariamente para la bebida, debe formar parte, naturalmente, del examen regular de aquel líquido.

A lo menos tal práctica se impone en las regiones ó distritos mineros, ó en cualquier parte en cuya vecindad pueda haber establecimientos en grande escala para el beneficio de los metales. Llegará á suceder en este caso que dichos establecimientos vacien sus desperdicios en las corrientes mismas de agua, que en diversos puntos de su trayecto tienen que ser utilizadas por los habitantes riberanos, como única fuente de provisión para las diarias necesidades. En toda la extensa región setentrional de Chile, abundantísima en minerales de toda especie, no es raro que ocurra la circunstancia señalada, tanto más digna de tomarse en consideración, cuanto que las corrientes de agua dulce son por lo general allí de muy escaso caudal.*

* En más de una ocasión la prensa ha dado cuenta en Chile de los efectos tóxicos de las aguas impurificadas por los desperdicios de los establecimientos aludidos. Ha habido sin duda exageración al relatar esos malos efectos ; pero, preciso es convenir en que la probabilidad del mal existe. Por ejemplo, según datos que debemos á la amabilidad del

La investigación se concreta principalmente al plomo, al cobre y al hierro; pero dependerá naturalmente de las condiciones de la localidad ó de otras circunstancias difíciles de precisar, el tener que averiguar la presencia de otros cuerpos como el zinc, el manganeso, el arsénico, &c. Para el caso más general, que es el primero, el ensaye que es muy sencillo y espedito, está fundado en la formación de los súlfuros respectivos de esos metales por medio del hidrógeno sulfurado ó del súlfuro de amonio. Por ejemplo, la reacción con el nitrato de plomo es:



$$PbN_2O_6 + H_2S = PbS + 2HNO_3.$$

señor don E. Chouteau, los establecimientos de amalgamación situados en las márgenes del rio Coquimbo son siete actualmente (1888). El más cercano á la ciudad de la Serena dista más ó menos siete leguas, y los otros están situados dos leguas más al interior del valle. Las aguas procedentes de los barros de los minerales beneficiados y que se botan al rio contienen los elementos siguientes: cloruro de sodio, sulfato de sodio; cloruro, subcloruro y oxicluroro de cobre; cloruro de zinc, súlfuro de zinc, cloruro de hierro, &c., &c., y accidentalmente arsénico. El establecimiento de Pelica, el más próximo á la Serena, y el más importante de todos, tiene dos barriles de amalgamación, de capacidad cada uno de cuarenta quintales métricos de mineral, y la cantidad de sal que se emplea diariamente es como de ocho quintales métricos, y el sulfato de cobre usado en el mismo tiempo para producir subcloruro de cobre que durante la amalgamación se transforma casi en su totalidad en cloruro de zinc, será más ó menos de 80 kilogramos. Los demás elementos que contienen las aguas del lavado entran en muy pequeñas cantidades relativamente á estos. Los otros establecimientos juntos contribuyen en igual proporción á viciar las aguas del Coquimbo. Aunque el caudal de agua de este rio no es muy grande, al menos el caudal que llega á la Serena, pues se aprovecha en regar muchos miles de cuadras de terreno, es improbable que las sustancias enumeradas alcancen á contaminarlo peligrosamente. A lo menos las aguas que hay en el estanque de que se surte la población han sido examinadas mineralmente y no contenían ingredientes nocivos. Es muy probable, sin embargo, que las que tienen que usar forzosamente los pobladores vecinos á dichos establecimientos no se hallen en el mismo caso.

Por otra parte estos metales, en disoluciones muy diluidas, no producen precipitados de súlfuros, pero sí dan una coloración oscura á la disolución, siendo la intensidad de aquella proporcional á la cantidad de metal presente. De ahí la posibilidad de estimar cuantitativamente, por un procedimiento colorimétrico, el cobre, el plomo, &c.

Determinaciones del Hierro, del Plomo y del Cobre.

UTILES Y DISOLUCIONES NECESARIOS.

Una cápsula de porcelana, de más ó menos 100 CC.
Una varilla ó agitador de vidrio.
Un frasco con súlfuro de amonio.

Disolución ferrosa—

Sulfato ferroso . . .	4·964 gramos.
Agua destilada . . .	1000 CC.

Disolución de cobre—

Sulfato de cobre . . .	3·937 gramos.
Agua destilada . . .	1000 CC.

Disolución de plomo—

Acetato de plomo . . .	1·834 gramo.
Agua destilada . . .	1000 CC.

Cada 1 CC. de las disoluciones anteriores, preparadas con sales puras y bien secas, contiene 1 miligramo de metal según se deduce de los pesos moleculares respectivos :

$Fe = 56$, y $FeSO_4 \cdot 7H_2O = 278$;
$Cu = 63·33$, y $CuSO_4 \cdot 5H_2O = 249·33$; y
$Pb = 206·91$, y $Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O = 378·91$.

1. *Determinación del hierro.*—En 100 CC. de la muestra de agua en ensaye, que se han vertido en la cápsula

de porcelana, sumérgese la extremidad de la varilla de vidrio previamente mojada en el súlfuro de amonio, y se revuelve al mismo tiempo el agua. Si existe hierro, el líquido tomará un tinte más ó menos oscuro. La cuestión es ahora hacer una mezcla artificial de agua destilada con disolución ferrosa, en tales proporciones que tratada por el mismo reactivo resulte con la misma coloración. Es claro que el número de centímetros de disolución ferrosa empleados indicará el de miligramos de Fe en los 100 cc. de la mezcla artificial, y por consiguiente en igual volumen del agua ensayada. Multiplicado dicho número por 10, se tendrá la proporción correspondiente á 1 litro. En cuanto á la manera de comparar los colores, sea directamente, sea por medio de un colorímetro, véanse los detalles relativos á la dosificación del amoníaco por medio del reactivo de Nessler (CAP. VIII., PARTE II.).

Observación.—No es el hierro el único metal que produce un precipitado oscuro con el sulfhidrato de amonio; como es sabido, también el plomo y el cobre hacen otro tanto en las mismas circunstancias. Para distinguir ambos casos, se toma en cuenta la acción disolvente de los ácidos débiles sobre el súlfuro de fierro, y su ninguna acción sobre los súlfuros de plomo y de cobre. En la práctica conviene primero obtener la coloración en disolución alcalina, la que despúes se hace ligeramente ácida con una ó dos gotas de ácido clorhídrico, observando atentamente si el color desaparece, ó disminuye en intensidad solamente. Si lo primero, no hay en el agua sales de plomo ó de cobre; si lo último, prueba es de la existencia de estos metales, y así habrá que hacer extensivos á ellos el ensaye. Una buena agua potable no debe

contener arriba de 15 á 20 miligramos de fierro por litro.

2. *Dosificación del cobre y del plomo.*—Se procede en ambos casos de una manera exactamente análoga á la descrita para el fierro ; sino que en vez de la disolución de sulfato ferroso se echa mano de las de sulfato de cobre y de acetato de plomo, respectivamente. Según las indicaciones de Miller, conviene acidular los 100 cc. con una á dos gotas de ácido acético, y en seguida agregar, en vez del sulfhidrato de amonio en la forma indicada, 5 cc. de disolución saturada de ácido sulfhídrico.

Entre cobre y plomo, una buena agua debe contener siempre menos de 15 miligramos por litro. Es inútil hacer distinciones, y estimar cuantitativa y separadamente cada uno de estos metales ; por que la cantidad indicada, se refiera á uno ó á otro existente en cualquier proporción, es suficiente para hacer inaceptable un agua.

Si se considerase necesario un ensaye más delicado para determinar la presencia de los metales susodichos, es evidente que lo primero que debiera hacerse sería concentrar por evaporación mayor cantidad de agua que la señalada, y en seguida solamente agregar el reactivo ; pero, por regla general, semejante delicadeza casi no tiene objeto.

Observación.—Precaución digna de tomarse en cuenta, caso de recurrir á la evaporación antedicha, es la de no hacer tal operación en vasija de platino, ni tampoco de vidrio con base de plomo ; sino de vidrio de Bohemia ó de porcelana.

Determinación del arsénico.—Frankland recomienda seguir la siguiente marcha : evapóranse á sequedad en una cápsula de porcelana, 500 cc. del agua en examen, previamente un poco alcalinizada por medio de

soda ó de potasa cáustica libre de arsénico. Trátase el residuo por ácido clorhídrico concentrado, y el todo se vacia por el embudo en un aparato de Marsh que haya estado generando hidrógeno puro por algunos minutos. El gas que sigue desprendiéndose, lo cual se procura sea lentamente, atraviesa primero un tubo en U lleno de piedra pómez humedecida con acetato de plomo (absorción del ácido sulfhídrico producido por acción secundaria del hidrógeno sobre el ácido sulfúrico, desde que la temperatura del frasco pasa de 40°, más ó menos) y después un tubo de combustión, que se calienta hasta el rojo, en el centro, por medio de una pequeña lámpara. Si en el gas desprendido existe hidrógeno arseniado, depositase el arsénico en forma de anillo metálico oscuro, en la parte fría del tubo.

La cantidad de arsénico se estima aproximadamente comparando el anillo formado con una serie de anillos tipos, obtenidos de una manera análoga, con cantidades conocidas de arsénico.

Observación.—Antes del ensaye debe hacerse un experimento previo en blanco, para cerciorarse de que el ácido, el zinc y el aparato están libres de arsénico. A más, como no sólo el arsénico puede producir el fenómeno del anillo metálico, sino que también el antimonio posee esta propiedad, bueno es someter el depósito formado á la acción de una disolución de hipoclorito de calcio: si desaparece, trátase á no dudarlo del arsénico; en caso contrario, el depósito es antimonial.

Otros metales.—*Bario.*—Puede presentarse la ocasión de tener que determinar la presencia de este metal en las aguas; lo que, por supuesto, no será necesario, á existir el menor vestigio de sulfatos en ellas. El ensaye es muy sencillo: concentrada el agua por evapo-

ración, se trata por el ácido sulfúrico, unas cuantas gotas del cual bastarán para producir un precipitado blanco, ó al menos una turbiedad manifiesta, si hubiese bario el en líquido. Se procurará averiguar, además, si el residuo del agua comunica una coloración verde á la llama de una lámpara de alcohol. Esta indicación serviría (á más de la coloración negra debida á la acción del ácido sulfhídrico sobre los compuestos plúmbicos), para distinguir el bario del plomo, cuyo sulfato también es insoluble.

Zinc.—Puede existir en el agua como bicarbonato, y formar gradualmente en la superficie una capa de carbonato. Para cerciorarse de su presencia, recógese un poco de esta capa y se calienta sobre una hoja de platino. Si después que la materia volátil ha desaparecido ó persiste un residuo, amarillo cuando caliente y blanco cuando frío, es señal de la presencia del zinc. Esta reacción es extremadamente delicada. (Frankland.)

CAPITULO V.

ESTIMACIÓN CUANTITATIVA DEL CLORO Y DE LOS ÁCIDOS NÍTRICO Y NITROSO.

Estimación del Cloro.—La presencia de los cloruros, ó bien si se quiere del cloruro de sodio, suele ser un medio indirecto, cual queda dicho en el CAPITULO II., para comprobar la contaminación del agua por sólidos ó líquidos de origen excrementicio.

Basta determinar el cloro para tener una idea debida de la cantidad de cloruros presentes en la muestra de agua ensayada, expresados simplemente en cloruro de sodio, ya que esta sal forma la casi totalidad de ellos. La operación es sencilla y susceptible de mucha exactitud si se emplea el método de Mohr, que es el descrito á continuación.

UTILES NECESARIOS.

Una bureta de 100 cc. (montada en su correspondiente soporte), para la muestra de agua.*

Una pipeta de 1 cc. divida en centésimas de cc.

Una cápsula de porcelana, como de 200 cc.

Varillas o agitadores de vidrio.

* No es indispensable, pero sí más cómoda que una bureta cualquiera, cuando se trata de pequeñas cantidades de agua.

DISOLUCIONES.

1. *Disolución de nitrato de plata.*

Nitrato de plata puro . .	4gr79
Agua destilada	1000 cc.

Esta disolución está calculada para que 1 cc. de ella pueda precipitar 1 miligramo de cloro; porque, en efecto, en los 4·79 miligramos de NO_3Ag correspondientes á cada 1 cc. de disolución hay 3·043 miligramos de Ag, cantidad de plata que se combina con 1 miligramo de Cl, según se desprende de los pesos atómicos respectivos, 108 y 35·5.

2. *Disolución semisaturada de cromato de potasio.*

Cromato de potasio . .	3 gramos
Agua destilada . . .	100 cc.

Un centímetro cúbico de esta disolución contiene aproximadamente 3 centigramos de cromato, cantidad que más ó menos se necesita emplear en cada operación, cuando el volumen de la muestra de agua ensayada, es de 50 á 100 cc. Por los detalles del procedimiento se verá que la fuerza ó cantidad de la disolución crómica empleada es asunto de secundaria importancia, dentro de ciertos límites, visto que el papel del cromato se reduce á servir de índice ó indicador en cierto instante de la reacción.

Detalles del procedimiento.—Viértense en la cápsula de porcelana, por ejemplo 50 cc. del agua contenida en la bureta. Se agrega en seguida al agua de la cápsula cosa de 1 cc. de la disolución de cromato, lo que comunicará al líquido un ligero color amarillo. Hecho esto, se llena con la disolución de plata la pipeta dividida en centésimas de cc., teniendo cuidado al hacerlo, de aspirar suavemente con la boca hasta que el líquido llegue

poco más arriba de la última división superior, es decir del cero. Se bota en seguida el pequeño exceso, y una vez conseguido el cero exacto, se deja caer gota á gota el reactivo sobre el agua de la cápsula, revolviendo al mismo tiempo el contenido con una varilla de vidrio. Al mezclarse la disolución argéntica con la de cromato de potasio, se forma, por doble descomposición, cromato de plata, de color rojo intenso; cromato que desaparece apenas formado, mientras haya cloruros solubles en el agua. Pero, tan pronto como la última molécula de ellos ha sido descompuesta por la plata, la coloración roja se hace permanente, y este es el momento de no agregar más disolución.

Si todo el centímetro cúbico de reactivo no ha alcanzado á producir la completa precipitación del cloro, habrá entonces que llenar de nuevo la pequeña pipeta, y proceder como antes, hasta consecución del objeto deseado.

El número de centésimos que ha sido menester emplear hasta el instante de producir el principio de coloración permanente representa, es indudable, el de centésimas de miligramo de Cl contenidas en los 50 cc. de agua que como ejemplo hemos indicado tomar para el ensaye.

De mayor exactitud, si cabe, será el resultado tomando, en vez de 50 ó 100 cc. *v. gr.* un litro del agua, y concentrándolo por evaporación hasta reducirlo á la décima ó vigésima parte de su volumen primitivo. En tal caso la pipeta de 1 cc. sería indudablemente inadecuada, y convendría usar otra de mayor capacidad, también correctamente dividida. Por lo general, basta sin embargo proceder como queda indicado más arriba; pues repitiendo la determinación con diversas cantidades

de la misma agua, á saber 25, 50, 75 y 100 cc. se verá que hay una proporcionalidad notable en los resultados, siempre que la operación sea hecha cada vez con la delicadeza debida.

El empleo del cromato es de muchísima utilidad, tanta que sin su auxilio sería imposible precisar el momento mismo en que deja de formarse todo precipitado de cloruro argéntico. El principio de este ingenioso procedimiento, debido á Mohr, consiste en que la plata tiene más afinidad con el cloro que con el ácido crómico, y así no podrá persistir la menor cantidad de cromato de plata mientras haya cloruros en el agua que se está ensayando.

Para evitar toda causa de error en esta determinación deben adoptarse las siguientes precauciones:

1ª. El cromato de potasio de la disolución auxiliar debe de ser puro y, muy principalmente, libre de cloruros. La razón es obvia.

2ª. Ni la disolución de nitrato de plata, ni el agua ensayada deben tener reacción ácida, pues los ácidos disuelven el cromato de plata. Para evitar hasta la posibilidad de este segundo inconveniente es bueno agregar al agua, antes de empezar la operación, una pequeña cantidad de carbonato de calcio puro, preparado p. ej. por precipitación; ó bien de carbonato de sodio, también puro.

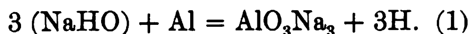
3ª. Todavía, para más seguridad, sobre todo si se trata de una serie de determinaciones importantes, no está de más verificar la fuerza de la disolución de plata, valiéndose para el caso de una de cloruro de sodio de fuerza conocida, que encierre, por ejemplo, un miligramo de cloro por centímetro cúbico. (163 miligramos de NaCl en 100 cc. de agua destilada.)

4ª. Para apreciar mejor el instante preciso de la reacción en que el cromato de plata se hace persistente, recomiendan algunos hacer el ensaye á la luz amarillenta del gas ó de otra luz artificial análoga: en estas condiciones el más mínimo exceso de plata agregado al agua produce una coloración rojiza, perceptible desde el mismísimo momento en que empieza.

Resulta de la descripción precedente que la operación de determinar el cloro en las aguas es, como dijimos al principio, bastante rápida y de una exactitud que puede llevarse hasta muy lejos si se emplean los medios delicados y las precauciones que acabamos de recomendar.

Estimación del ácido nítrico.—De un modo análogo al caso del cloro, la cantidad de nitratos en las aguas se aprecia por la de ácido nítrico acusada por los reactivos especiales que se usan para esta determinación. En realidad de verdad, no hay todavía un método suficientemente adecuado para determinar con rapidez y exactitud el ácido nítrico Tal vez el más conveniente de aplicar en el examen de las aguas es el de Chapman, descrito á continuación, no tanto por superioridad sobre cualquiera otro de los conocidos, cuanto por utilizarse en su aplicación aparatos y manipulaciones iguales á las usadas en la determinación de la materia orgánica por el método del amoníaco.

Consiste el procedimiento en transformar el ácido nítrico en amoníaco por medio del hidrógeno en estado naciente, aprovechando para la generación de este gas la acción del aluminio sobre las disoluciones de los hidratos de potasio ó sodio. Las ecuaciones que siguen explican esta transformación:



$$3\,(NaHO) + Al = AlO_3Na_3 + 3H. \quad (1)$$



$$NO_3H + 8H = 3H_2O + NH_3. \quad (2)$$

Determínase en seguida el amoníaco según el método descrito en la PARTE II., CAP. VIII., y se deduce la cantidad de ácido nítrico, teniendo en cuenta, como lo patentiza la ecuación (2) que cada molécula de NO_3H corresponde á una molécula de NH_3.

UTILES Y DISOLUCIONES.

Retorta y correspondiente condensador de Liebig.

Aluminio en hoja.

Disolución de soda cáustica.

Como es indispensable evitar la presencia hasta de la más mínima cantidad de nitratos en la disolución, prepárase ésta disolviendo sodio metálico en agua, en la proporción de 2 gramos de sodio por 100 cc. de agua destilada.

DETALLES DE LA OPERACIÓN.

Se toman 100 cc. del agua que debe ensayarse y se les mezcla, en una cápsula ó vasija apropiada, con un volumen igual de la disolución alcalina de hidrato sódico; se introduce en el líquido un pedazo de aluminio en hoja, de mayor peso que el de metal que debe disolverse (ecuación (1)) y se deja todo en reposo por algunas horas. Al fin de este tiempo destílase el líquido en una retorta, y se mide el amoníaco por el reactivo de Nessler. La instrucción detallada de esta parte de la operación se encontrará en el mismo CAP. VIII. Lo único que varía es la cantidad y naturaleza del líquido que se echa en la retorta. Por lo demás, es decir con respecto á la *nesslerización*, se procede de idéntica manera.

Multiplicando el resultado obtenido, por 10, se tendrá la cantidad de amoníaco correspondiente á un

litro, y de este dato se deducirá, como queda dicho, la cantidad de ácido nítrico contenida en el agua.*

Estimación del ácido nitroso.—Como determinación de valor higiénico, la del ácido nítrico es suficiente, visto que los nitritos se pueden considerar como un producto de la redución parcial de los nitratos, y que por lo mismo la averiguación de su presencia queda envuelta en la determinación indicada. Resulta de los trabajos de Gayón y Dupetit † que casi nunca se deben encontrar en la naturaleza nitratos sin nitritos, por que

* Hay muchos otros métodos para la determinación del ácido nítrico descritos en los tratados de análisis cuantitativa. He aquí algunos de los usados principalmente en el análisis de las aguas:

1. Método del añil, modificado por Warrington, fundado en la descoloración de la indigotina por el ácido nítrico [FRANKLAND. *Water Analysis*, pp. 31-39].

2. Método del mercurio, de Crum y Frankland, consistente en agitar sobre mercurio una disolución concentrada del nitrato con un gran exceso de ácido sulfúrico; con lo cual todo el nitrógeno se transforma en óxido nítrico [FRANKLAND, *loc. cit.* pp. 86-90].

3. Método electrolítico del "par zinc-cobre" de Gladstone y Tribe: el nitrógeno de los nitratos es transformado en amoníaco, y éste se valúa por el reactivo de Nessler [FRANKLAND, *loc. cit.* pp. 29-30].

4. Método de Schulze-Tiemann, fundado en la descomposición de los nitratos bajo la influencia del ácido clorhídrico y del cloruro ferroso. Modificación del antiguo método de Pelouze. [TIEMANN Y GÄRTNER. *Die chemische mikroskopisch-bakteriologische Untersuchung des Wassers*—pp. 170-175].

5. Método de Schlösing-Reichardt, fundado en la transformación del ácido nítrico en bióxido de nitrógeno por medio de una disolución de sal ferrosa [E. REICHARDT. *Guide pour l'analyse de l'eau.* Versión francesa, pp. 94-98].

6. Método de Grandval-Lajoux, fundado en la transformación del fenol en ácido pícrico, por la acción del ácido nítrico, y sobre la intensidad de coloración que posee el picrato de amoníaco. [A. ZUNE. *Analyse des eaux potables et détermination rapide de leur valeur higiénique*, pp. 94-97.]

† *Loc. cit.* pp. 1-4.

los gérmenes reductores de los primeros se encuentran esparcidos con profusión en el aire, la tierra y las aguas Luego la presencia de nitritos en el agua significa coexistencia de nitratos.

Sin embargo, conviene en ciertos casos una determinación separada del ácido nitroso (N_2O_3), para averiguar qué parte de acción cabe á este cuerpo en la reducción del permanganato de potasio, al determinar la materia orgánica de un agua por el método de la oxidación. No es tan sin importancia una averiguación semejante, en virtud de la acción fuertemente reductora de los nitritos, comparada con la de los cuerpos orgánicos: una parte de nitrito sódico reduce, según Frankland, veinte veces tanto permanganato, como igual cantidad de urea, creatina, ó almidón.

Según el mismo autor, el procedimiento más fidedigno para la estimación del ácido nitroso es el de Griess, modificado por Preusse y Tiemann: siendo á la vez de fácil ejecución y de excesiva delicadeza, como que alcanza á patentizar una parte de N_2O_3 en treinta millones de partes de agua. La reacción en que se funda el método es la siguiente: la *meta-fenileno-diamina* C_6H_4 $(NH_2)_1$ $(NH_2)_3$, (que es una base diácida, poco soluble en agua), en disolución acidulada produce con un nitrito alcalino, una coloración amarillenta, debida á la formación de *triamidoazobenceno*, $C_{12}H_{13}N_3$ (El conocido color de anilina: *amarillo* ó *moreno de Bismarck*). He aquí la descripción de Frankland, tomada de su *Water Analysis*, p. 40 y siguientes.*

El método consiste en la observación de la intensidad del tinte producido en 100 cc. del agua en examen al

* Véase también el ya citado tratado de análisis de las aguas de Tiemann y Gärtner, pp. 151-154.

agregar al líquido 1 cc. de una disolución de metafenilendiamina, y 1 cc. de ácido sulfúrico diluido; y en hacer una observación comparativa con una disolución graduada de nitrito de sodio, exactamente como se hace la determinación del amoníaco por el reactivo de Nessler (Véase *nesslerización*, PARTE II., CAP. VIII.).

Los útiles necesarios son:

1. Cuatro cilindros ó probetas de vidrio incoloro, en los cuales 100 cc. de agua lleguen á la altura como de 16 á 18 ctm., límite que se marcará con una raya.
2. Una bureta ó pipeta graduada para el ácido sulfúrico diluido, y otra para la disolución de metafenilendiamina;

Y las disoluciones:

1. Cinco gramos de metafenilendiamina en un litro de agua, descolorada, si fuese necesario, por negro animal, y acidulada con ácido sulfúrico.
2. Una parte de ácido sulfúrico en una ó dos de agua destilada.
3. Disolución de nitrito de potasio puro, de fuerza de 0·01 miligramo de N_2O_3 por centímetro cúbico. Para preparar esta disolución disuélvanse 0·406 gramo de nitrito de plata seco y puro en agua caliente, y descompóngasele con un ligero exceso de cloruro de potasio. Después de enfriamiento, complétese la disolución hasta un litro, déjese asentar el cloruro de plata, y dilúyase cada 100 cc. del líquido clarificado hasta completar nuevamente un litro.

La marcha de la operación es la siguiente:

100 cc. del agua en ensaye se vacian en una de las probetas mencionadas más arriba, y se agregan conse-

cutivamente 1 cc. de la disolución sulfúrica, y 1 cc. de la de metafenilendiamina. Si al revolver el contenido con una varilla de vidrio se produce inmediatamente un color rojo, debe repetirse el experimento con porciones de á 50, 20, ó 10 cc. del agua previamente diluida hasta 100 cc. con agua destilada libre de ácido nitroso. La dilución es adecuada cuando la coloración se hace perceptible después de uno ó dos minutos. La cantidad de N_2O_3 hallada de esta manera, se multiplica, naturalmente, por el coeficiente de dilución.

Simultáneamente con efectuar el experimento anterior, deben ponerse en los otros tres cilindros ó probetas, 0·3 á 2·5 cc de la disolución graduada de nitrito potásico, completando cada porción hasta 100 cc. con agua destilada, y agregando á cada una consecutivamente 1 cc. del ácido sulfúrico y 1 cc. de la metafenilendiamina. Se compara, en seguida, el color producido en estos tres cilindros con el del agua igualmente tratada.

Repitiendo estos experimentos con diferentes proporciones de la disolución de nitrito, según los resultados obtenidos con la primera serie, se obtiene eventualmente una disolución diluida de nitrito, de fuerza conocida, y que posee exactamente el mismo tinte que la muestra de agua. Pero, como la intensidad de tinte en todas las disoluciones sigue creciendo gradualmente por tiempo considerable, es necesario hacer finalmente una doble serie de experimentos, comenzadas al mismo tiempo. Conviene prolongar hasta 20 ó 25 minutos la observación de los colores.

Para el éxito de esta determinación es necesario que el agua sea incolora. Las aguas con cierto tinte pueden, en general, ser descoloradas agregándoles algunas gotas de disoluciones de soda cáustica ó de

carbonato de sodio, gracias á lo cual la materia colorante es arrastrada con los carbonatos de las tierras alcalinas. Si el agua no contiene suficiente cantidad de sales terrosas, puede agregársele un poco de alumbre, ya sea antes, ya después de la adición de las disoluciones nombradas, teniendo cuidado, naturalmente, de que el agua permanezca alcalina. Antes de usar el agua asi clarificada, es menester separar, por filtración, el precipitado.

CAPÍTULO VI.

DOSIFICACIÓN DE LOS GASES.

Las mismas consideraciones hechas en el Capítulo I. sobre lo que se entiende por exactitud y lo que con ella se persigue, servirán para esta determinación. La medida exactísima de los gases disueltos en el agua sería innecesaria, como dato aislado; pero como siempre es conveniente adoptar el camino científico en la determinación de toda cantidad física, á fin de que tenga valor comparativo, debe procederse en el presente caso de acuerdo con la práctica usual, es decir expresando el resultado despúes de hechas con toda precisión las correciones debidas, para referir los respectivos volúmenes á una misma temperatura y á una misma presión. La fórmula dada más adelante hace fácil esta reducción.

El interés principal de la determinación que nos ocupa se limita, puede decirse, al oxígeno disuelto que encierran las aguas potables; y, más que á cualquier otro punto relacionado con esta circunstancia, al de averiguar la disminución que experimenta,—al cabo de cierto tiempo que se toma por comparación y á influencias de la respiración microbiana,—el monto total de ese gas primitivamente contenido en un volumen dado

de agua. La intensidad de este fenómeno es función de la riqueza microorgánica del agua, del tiempo y de la temperatura; de suerte que si se trata de utilizarlo como indicio entre los varios que sirven para juzgar del carácter higiénico de un agua, necesario es colocarse desde el principio de una serie de determinaciones, en condiciones idénticas de investigación. Comenzando, p. ej., por someter 1 litro del agua recién recogida al análisis gaseoso, para determinar cuánto oxígeno hay en ese volumen, podría guardarse otro litro de la misma agua por 24 horas en la estufa de cultivos, mantenida digamos á 35°. La diferencia, en contra para el segundo caso, entre las determinaciones del oxígeno, representaría el consumo de ese gas por los microorganismos del agua, en el tiempo y en las condiciones indicadas. La única precaución, que á no ser puesta en práctica acarrearía resultados engañosos, es la de mantener el segundo litro de agua durante todo el tiempo en la oscuridad, pues de lo contrario las plantas microscópicas clorifiladas que pudiesen haber en el líquido, producirían oxígeno á la luz, el cual iría á reemplazar al absorbido por los otros microorganismos.

Solubilidad de los gases en el agua.—Los gases que se encuentran disueltos en las aguas potables son el O, el N y el CO_2, todos ellos en proporciones variables. Prescindiendo del anhídrido carbónico, cuya proporción en la atmósfera es insignificante, y cuya más abundante cantidad en el agua proviene de diverso origen, tenemos para los dos primeros gases las bien conocidas leyes que siguen, y cuyo significado es bueno precisar por los motivos expuestos más adelante:

PRIMERA LEY.—*El agua, en contacto con una atmósfera indefinida de un gas, disuelve un volumen que*

reducido á la tensión de esta atmósfera, está para una temperatura dada en relación constante con el volumen del líquido.

Así, el agua á 0° en presencia de una atmósfera indefinida de oxígeno, disuelve un volumen que es 0·04114 del de agua; es decir que 1 litro de agua á 0° disuelve 41·14 cc. de oxígeno.

Para el nitrógeno, en idénticas condiciones, el primer número es 0·02035 y 20·35 cc. el volumen disuelto por litro de agua; y

Para el anhídrido carbónico, 1·7987 y 1798 cc. respectivamente.

Esta relación constante, ó sea el volumen de gas disuelto por 1 litro de agua, es lo que se llama *coeficiente de absorción* ó de *solubilidad*, coeficiente que varía para cada gas y para cada temperatura.

SEGUNDA LEY.—*El agua, en presencia de una atmósfera formada de varios gases, disuelve cada uno de ellos como si estuviese solo con la tensión que posee en la mezcla.*

Como la tensión es necesariamente proporcional á la cantidad en que cada gas entra en la mezcla resulta entonces para el aire, cuya composición es:

(1) Aire atmosférico	Oxígeno .	20·9 %	en volumen.
	Nitrógeno .	79·1 %	,,
		100·0 %	,,

que las proporciones respectivas en que se disuelven estos gases son como 20·9 : 79·1.

Pero como á una misma temperatura *t* cada uno tiene diferente coeficiente de solubilidad (α para el O y, β para el N, *v. gr.*) luego la definitiva relación es

$$\alpha\, 20{\cdot}9 : \beta\, 79{\cdot}1.$$

Así, la relación del oxígeno al nitrógeno en el *aire disuelto* en 1000 cc. de agua destilada, á la temperatura de 15° y la presión normal de 76 centímetros será, sustituyendo á a y á β por sus valores :

(2)	Oxígeno .	0·02989 × 20·9 % de 1000 cc. =	6·25 cc.
	Nitrógeno .	0·01478 × 79·1 % de 1000 cc. =	11·70 cc.

Lo que da, por litro de agua, un total de 17·95 cc. de aire cuya composición es diferente del atmosférico, según puede verse comparando el dato que sigue (3) con el de más arriba (1). :

(3) Aire disuelto	Oxígeno .	34·82 %	en volumen.
	Nitrógeno .	65·18 %	,,
		100·00 %	,,

Según lo expuesto en el Capitulo I., la proporción de oxígeno, realmente disuelto, nunca es tan grande, aún en las aguas más puras, debido á la absorción de ese gas por los gérmenes aerobios.

La razón por que, dijimos, conviene precisar el significado de las leyes anteriormente trascritas, es que los resultados de la mayoría de los análisis gaseosos de las aguas consignados en los libros, están á veces en ligera, y otras en manifiesta discrepancia por exceso, sobre lo que indican los coeficientes de absorción.

Frankland,* por ejemplo, da para el agua de Loch Katrine (Glasgow) la siguiente proporción, que reducimos de pulgadas cúbicas á centímetros cúbicos :

Oxígeno . . .	7 cc.	por litro.
Nitrógeno . . .	17·3 cc.	,,

La cantidad correspondiente al N, como puede verse, es superior á lo que indica el cálculo (16 cc.) aún

* *Loc. cit.*, p. 3.

para la temperatura de 0°; con mayor razón lo será para la temperatura más elevada que debe haber tenido el agua al tiempo del ensaye. No tomamos en cuenta el O porque ya hemos dicho que su proporción en el aire disuelto en el agua varía por otras causas agenas á las leyes de la solubilidad.

En el diccionario de química de Würtz se consigna un análisis de agua del Ródano, en Ginebra, según el cual dicha agua contenía:

Oxígeno . . .	8 cc.	por litro.
Nitrógeno . . .	18·4 cc.	,,

Este análisis, que es de Sainte-Claire Deville, no es una excepción entre otros muchos de la misma especie debidos á este eminente químico.

No siendo posible atribuir estos excesos á errores de observación, nos encontramos frente al dilema: ó que el agua no destilada, como es el agua corriente natural, disuelve gases en proporciones diferentes de lo indicado por las leyes, ó bien que se trata de un estado particular y transitorio de sobresaturación gaseosa. Probablemente, acaso, y esta sería otra manera de expresar la última hipótesis, el resultado se debería á veces á un exceso de aire, no disuelto sino retenido mecánicamente, digámoslo así, en forma de pequeñas burbujas ó bien adherido en capa invisible á las paredes de las vasijas que contienen el agua en análisis.

Diversos métodos de dosificación de los gases.

Sea que se trate de la determinación del aire tomado en conjunto, sea de la del oxígeno en particular, tres métodos generales pueden servir para la extracción de los gases:

1º. El de la ebullición á la presión ordinaria;

2º. El de una ligera elevación de temperatura combinada con una disminución de la presión (Ebullición en el vacío); y

químicos.

3º. El de la absorción directa del oxígeno por medios

Primer método.—Usanse varias disposiciones de aparatos para expulsar por este medio los gases del agua y recogerlos al mismo tiempo en una probeta ó campana graduada. La fig. 7 representa una de las disposiciones más convenientes, á la vez que fácil de combinar con los elementos usuales de los laboratorios. Consta de un globo ó matraz de vidrio, unido á un pequeño recipiente de vidrio ó de metal, B, por un pedazo de tubo de caucho, suficientemente flexible para que por medio de las pinzas P, se pueda interceptar completamente la comunicación entre el matraz y el resto del aparato. El tubo D, de vidrio, y como de 3 milímetros de diámetro interno, termina inferiormente en una extremidad encorvada, que puede entrar en la probeta graduada C, llena de mercurio. La cubeta M. contiene también mercurio en suficiente cantidad. Las demás partes del aparato no necesitan explicación.

Lleno hasta P el matraz, con el agua cuyos gases se van á determinar; parcialmente llena con cualquier agua la parte superior del aparato, (más ó menos hasta la mitad del pequeño globo B); é interceptada la comunicación en P por medio de las pinzas, se enciende la lámpara de espíritu de vino y se hace hervir el agua en B, dejando que el vapor escape libremente á la atmósfera por la extremidad del tubo D, la cual, durante esta primera parte de la operación, no debe estar introducida

en la campana. Después de unos cuantos minutos de ebullición y de escape de vapor, se apaga la lámpara,

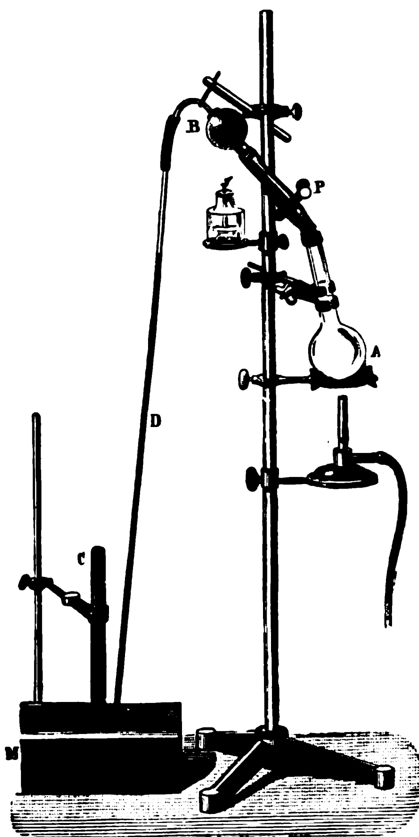


Fig. 7.—EXTRACCIÓN DE LOS GASES DEL AGUA POR LA EBULLICIÓN Á LA PRESIÓN ORDINARIA.

teniendo cuidado de que, á partir de ese mismo instante, la extremidad referida del tubo quede completamente sumergida en el mercurio de la cubeta. A medida que se

produce el vacío por condensación del vapor de agua en B, empieza á subir el mercurio en el tubo D, hasta quedar estacionario una vez que la columna alcanza más ó menos 76 centímetros de altura. (Al nivel del mar.)

Conseguido esto, se retira la pinza P y se enciende el quemador de Bunsen. A poco empiezan á desprenderse burbujas gaseosas y, por fin, entra en plena ebullición el agua; aumenta la presión interna, baja por lo mismo el mercurio en el tubo D, hasta que llega un momento en que pasa la mezcla de gases y un poco de vapor de agua á la probeta C. Apágase el quemador y la extremidad del tubo abductor se saca de la campana. El poco de agua que resulta de la condensación del vapor no perjudica en nada al éxito. Por último, enfriado el aparato, se toma nota de la temperatura, de la presión barométrica y del nivel superior del agua que se ha condensado sobre el mercurio.

En el supuesto de que sólo haya O, N y CO_2 en cantidades mensurables por el método volumétrico, efectúase el análisis del modo siguiente:

Determinación del CO_2.—Por debajo de la probeta se introduce un pedacito de potasa caústica, el cual, por la diferencia de densidad, sube hasta el nivel superior del mercurio y se disuelve rápidamente en el poco de agua condensada. Se agita la campana repetidas veces (sin sacarla del mercurio de la cuba) para provocar la absorción de todo el CO_2 por la potasa y se deja enfriar nuevamente, pues el fenómeno anterior produce una elevación de temperatura. Se toma nota del nuevo nivel, y la disminución de volumen que resulta, representa la cantidad de anhídrido carbónico que había en la mezcla.

Determinación del oxígeno y del nitrógeno.—Después

de ejecutado lo anterior se introduce, envuelto en un pedacito de papel, una pequeña cantidad de pirogalol, y se agita otra vez la campana. La nueva disminución de volumen, indica el del oxígeno.

El resto es el nitrógeno.

Segundo método.—Es necesario, para llevar á cabo la determinación de los gases por la ebullición del agua en el vacío, disponer de una bomba neumática de mercurio.

Efectúase la operación en un globo A, de vidrio (Fig. 8) de 250 á 300 cc. provisto, en un lado, de un cuello largo de 50 á 60 centímetros, y en la parte opuesta de un apéndice con llave, semejante al de las buretas de Mohr. Para ello se comunica el cuello con la bomba por medio de un grueso tubo de caucho, y se hace el vacío de un modo tan perfecto como sea posible. En

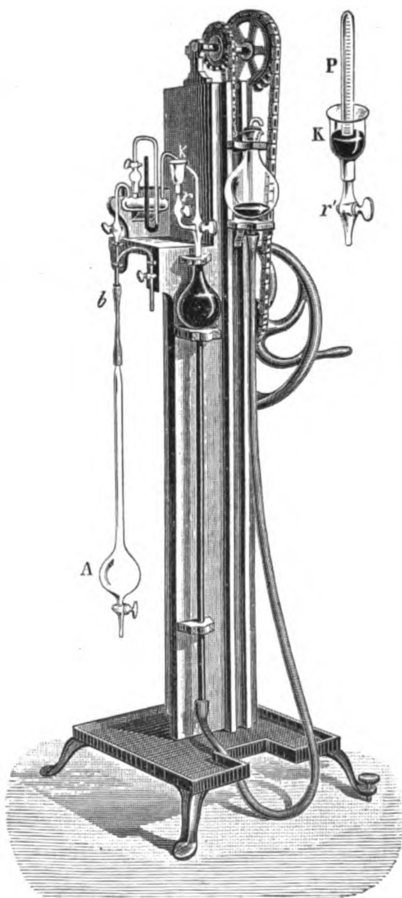


Fig. 8—Extracción de los gases del agua por medio de la bomba de mercurio.

seguida se introduce la extremidad del globo A en la muestra de agua, se abre la llave poco á poco, y se dejan penetrar 50 á 100 cc. del líquido. Caliéntase el globo, después de cerrar la llave, en un baño de maría á 40° (no representado en la figura) con lo cual entra el agua en ebullicíon, no faltando sino dar unos cuantos golpes de bomba para extraer los gases. Los cuales, en lugar de escapar á la atmósfera por la salida especial *r*, de la máquina, van á alojarse en la extremidad superior de la campanita graduada P, de antemano llena de mercurio, y colocada sobre el recipiente de esa misma salida.

Concluida la extracción de los gases según queda descrito, se analizan de acuerdo con lo dicho para el primer método.

Correcciones.

Como en toda determinación experimental, los errores en la de los gases del agua pueden ser de mayor ó menor entidad, según sean la perfección de los aparatos y la habilidad del operador; pero á parte de esto, la mezcla gaseosa se halla sometida á las influencias variables de presión y de temperatura. Las cuales, naturalmente, alteran en uno ú otro sentido el volumen total de los gases reunidos en la campana, y por lo mismo, los correspondiente á cada gas por separado. Nace de aquí la necesidad de reducir á una presión y á una temperatura normales los resultados obtenidos, á cuyo objeto sirve la fórmula

$$V_0 = V \frac{PT_0}{P_0T}$$

en la cual:

V_0 = Volumen á 0° y á la presión de 76 centímetros.
V = Id. á t° y á la presión P.
P = Presión de los gases en la campana, á la temperatura T.
T = Temperatura absoluta* al tiempo de la dosificación (273°+t°).
P_0 = Presión atmosférica normal, ó sea de 76 centímetros.
T_0 = Temperatura absoluta equivalente á 0° (273°).

Con respecto á P debe tenerse en cuenta, caso de no hacerse la operación en una cubeta *ad hoc* para sumergir la campana hasta nivelar el mercurio interior con el exterior, que su valor será igual al de la altura barométrica reducida á cero en el momento de la determinacion, menos:

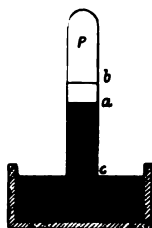


Fig. 9.

1º. El de la columna de mercurio *ac* (Fig. 9).
2º. El de la capa líquida *ab*.
3º. El de la tensión del vapor de agua en *p*.

* "Conveniente en extremo es, al tratarse de cuestiones relativas á los gases, expresar las temperaturas, no desde el *cero* del termómetro usual, sino desde el *cero absoluto* (272·85 bajo cero centígrado). Una de las más importantes aplicaciones de la concepción de temperatura absoluta es la de simplificar la expresión de las dos leyes descubiertas por Boyle y por Charles respectivamente. Pueden combinarse ambas leyes diciendo que *el producto del volumen por la presión de cualquier gas es proporcional á la temperatura absoluta*" [CLERK MAXWEL, *Theory of Heat*].

El segundo de estos valores, así como el de la tensión del vapor de mercurio son sin importancia, y no se toman en cuenta. No sucede lo mismo con el peso de la columna de mercurio, ni con la tensión del vapor de agua, esta última bastante sensible, como puede verse por la tabla dada más adelante.

EJEMPLO.

El volumen de la mezcla gaseosa extraída de 1 litro de agua de El Salto (1887) á la temperatura de 20°, y á una presión P = 61 centímetros, resultó ser de 40 cc., así divididos:

V	Oxígeno	7·6
	Nitrógeno	17·9
	Anhídrido carbónico . . .	14·5

Aplicando la fórmula tenemos:

$$V_0 = 40 \frac{61 \times 273}{76 \times (273 + 20)} = 29 \text{cc.}$$

Que se dividen proporcionalmente como sigue:

V_0	Oxígeno	5·50 cc.
	Nitrógeno	13· cc.
	Anhídrido carbónico . . .	10·50 cc.

TABLAS DIVERSAS RELATIVAS AL ANÁLISIS VOLUMÉTRICO DE LOS GASES DEL AGUA.

I. *Coeficientes de solubilidad.* [BUNSEN.]

TEMPERATURAS.	O.	N.	CO_2.
0°	·04114	·02035	1·7987
4°	·03717	·01838	1·5126
10°	·03250	·01607	1·1847
15°	·02989	·01478	1·0020
20°	·02838	·01403	1·9014

II. *Solubilidad del aire en el agua.* [BUNSEN.]

1 volumen de agua bajo una presión de 76 centímetros, á t° disuelve.		1 volumen de agua bajo una presión de 76 centímetros, á t° disuelve.	
TEMPERATURAS.	VOLÚMENES.	TEMPERATURAS.	VOLÚMENES.
0°	·02471	11°	·01916
1°	·02406	12°	·01882
2°	·02345	13°	·01851
3°	·02287	14°	·01822
4°	·02237	15°	·01795
5°	·02179	16°	·01771
6°	·02128	17°	·01750
7°	·02080	18°	·01732
8°	·02034	19°	·01717
9°	·01992	20°	·01704
10°	·01953		

III. *Tensión del vapor de agua en milímetros de mercurio.* [REGNAULT.]

TEMPERATURA.	TENSIÓN.	TEMPERATURA.	TENSIÓN.	TEMPERATURA.	TENSIÓN.
10° —	9·1	17° —	14·4	24° —	22·7
11° —	9·7	18° —	15·3	25° —	23·6
12° —	10·4	19° —	16·3	26° —	25·0
13° —	11·1	20° —	17·4	27° —	26·6
14° —	11·9	21° —	18·5	28° —	28·1
15° —	12·7	22° —	19·7	29° —	29·8
16° —	13·5	23° —	20·9	30° —	31·6

Tercer método.—Existen varios procedimientos para la dosificación particular del oxígeno disuelto en las aguas, mediante su absorción por algun cuerpo oxidable. Uno de los más conocidos es el del hidrosulfito de sodio, de Schützenberger y Rissler; bastante seguro en sus indicaciones pero de delicada aplicación. Se le encuentra descrito en el tratado de química general del primero de estos químicos.

M. Albert-Levy, jefe del servicio químico del Laboratorio de Montsouris, emplea el siguiente procedimiento, descrito en el anuario de dicho Laboratorio correspondiente á 1888.*

Se vierte en el agua hecha alcalina por la potasa un volumen determinado de sulfato de protóxido de fierro amoniacal. Se forma sulfato de potasio; el óxido de fierro se precipita y, en presencia del oxígeno disuelto, se transforma parcialmente en sesquióxido. La reacción es instantánea. La cantidad de sesquióxido formado indica el peso de oxígeno disuelto en el agua.

Para averiguar el peso de sesquióxido formado, se satura la potasa por un exceso de ácido sulfúrico; los dos óxidos de fierro, el protóxido no transformado, y el sesquióxido vuelven al estado de sulfatos, y se determina, por medio del permanganato de potasio, el óxido de fierro restante en el estado de protóxido. Estas operaciones deben hacerse evidentemente al abrigo del aire.

Detalles de la operación.—Una pipeta de doble llave, representada en la fig. 10, y cuyo volumen interno es conocido, se llena con agua de la que se va á analizar. Esto se lleva á cabo con sólo sumergir la pipeta en el

* *Annuaire de l'Observatoire Municipal de Montsouris* pour l'an 1888. Pág. 312 y siguientes.

agua, mientras las llaves queden abiertas. Una vez llena la pipeta, se cierran las llaves B y D y se la coloca entre las abrazaderas del soporte, á altura tal, que la parte inferior quede dentro de un vaso de vidrio que contiene en su fondo 2 cc. de ácido sulfúrico al 50 %.

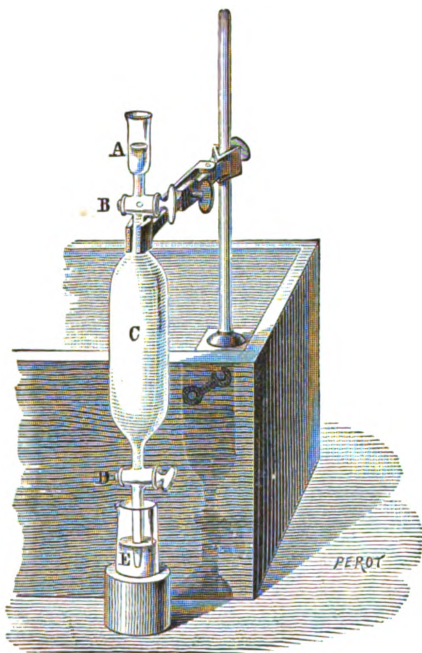


Fig. 10—PIPETA PARA LA DOSIFICACIÓN DEL OXÍGENO DISUELTO EN EL AGUA.

En el embudo A, término superior de la pipeta, se vierten 2 cc. de disolución de potasa á un décimo, y se dejan caer en el líquido abriendo las llaves con precaución, de modo que no pueda penetrar nada de aire; vueltas á cerrar las llaves, y bien seco el embudo, se

echan en éste 3 cc. de la disolución de sulfato de fierro amoniacal, y con el mismo juego de llaves, se introduce este sulfato de fierro en la pipeta.

El agua que se escapa por la llave inferior podría arrastrar pequeñas cantidades de óxido de fierro; así, es preferible recibirla en un líquido fuertemente ácido, de tal manera que el óxido de fierro no pueda peroxidarse.

Si V es volumen, en centímetros cúbicos, del agua contenida en la pipeta, V – 5 (2 cc. de potasa + 3 cc. de sulfato de fierro) es el volumen del agua que va á obrar sobre la sal de fierro. La reacción se produce; los óxidos de fierro, muy densos, caen al fondo del líquido; al cabo de unos cuantos segundos, todo el oxígeno del agua ha desaparecido.

Queda ahora que acidular el licor sin ponerlo en contacto del aire. Se vierten en el embudo 2 cc. de ácido sulfúrico al 50 % y, *dejando cerrada la llave inferior*, se abre la superior. Más pesado que el agua, penetra el ácido lentamente en la pipeta, se mezcla con el líquido y disuelve los dos óxidos de fierro.

Cuando el licor se ha puesto incoloro, se vierte el contenido de la pipeta en un matraz, así como también el agua procedente del lavado del aparato. Sométese este líquido á la acción del permanganato hasta aparición del tinte rosa sensible.

El volumen de permanganato vertido debe sustraerse del que correspondería á la totalidad del sulfato de fierro empleado. Para obtener esta lectura índice se procede de la siguiente manera:

Se vierten en un matraz 100 cc. del agua en ensaye, 2 cc. de potasa á un décimo, 4 cc. de ácido sulfúrico á un medio, y después 3 cc. de la disolución de sulfato de fierro amoniacal. Habiéndose echado el sulfato en un

licor ácido, no se transformará en sulfato de sesquióxido, y el aire atmósférico no tendrá acción sobre él. Si se vierte en el líquido la disolución diluida de permanganato potásico, se leerá en la bureta el número de centímetros cúbicos que ha sido necesario vaciar para peroxidar el óxido de fierro, y llegaráse exactamente al fin de la operación en el momento mismo en que una gota de permanganato colore de rosado claro el líquido.

Supongamos que esta lectura haya dado 11·40 cc. de permanganato y que, después del análisis de un agua, no se haya necesitado más que 5·10 cc. de permanganato; concluiráse entonces que el sulfato de fierro ha encontrado en el agua un peso de oxígeno igual al peso de oxígeno correspondiente á 11·40 cc. – 5·10 cc., ó sean 6·30 cc. de la disolución mangánica empleada.

La disolución de permanganato tiene una fuerza conocida. Se prepara con un peso determinado de permanganato en cristales y, además, verificase frecuentemente su concentración por medio de una disolución de ácido oxálico. Si, por ejemplo, la fuerza de la disolución es tal que 1 cc. de esta contiene 0·16 miligramo de oxígeno activo, deduciremos del experimento anterior que (V – 5) cc. del agua sometida al análisis contienen:

0·16 miligramo × 6·30 = 1·008 miligramo de oxígeno.

El material requerido para la determinación descrita es el siguiente:

Una bureta graduada para el permanganato;

Tres pipetas, de las cuales dos de 2 cc. y una de 3 cc.;

Un frasco de permanganato de potasio;

Un frasco de ácido sulfúrico;

Un frasco de potasa;

Un frasco de sulfato de fierro amoniacal;

Un matraz de 150 cc.;
Soportes para la bureta y para las pipetas.
Y las disoluciones:

1. *Acido sulfúrico.*—Disolución á un medio: volúmenes iguales de agua destilada y de ácido sulfúrico puro.
2. *Potasa.*—Disolución á un décimo: 100 gramos de potasa por litro de agua destilada.
3. *Permanganato.*—Disolucion $\frac{N}{50}$, que se prepara disolviendo 0·3624 miligramo de permanganato potásico puro en 1 litro de agua destilada. 1 cc. de ella corresponde á 0·16 miligramo de oxígeno activo.

SEGUNDA PARTE.

EXAMEN ORGÁNICO.

CAPÍTULO VII.

OBJETO Y ALCANCE DEL EXAMEN ORGÁNICO.—INTERPRETACIÓN PARTICULAR DE SUR RESULTADOS.

I.—OBJETO Y ALCANCE DEL EXAMEN.

Naturaleza de la materia orgánica de las aguas.— Aparte de las sales y de los gases disueltos, y aparte de otros cuerpos clasificados también en la categoría de minerales que pueden existir en suspensión en el agua potable, todo el resto de sustancias extrañas es necesariamente de naturaleza orgánico-vegetal ú orgánico-animal.

Hagamos, para mayor claridad, una clasificación rudimentaria de estas sustancias, ó simplemente separémoslas en tres grupos que nos permitan apreciar de un modo más manifiesto, aunque muy superficialmente todavía los elementos diversos de que constan, y tendremos :

1º. Materia orgánica inerte, vegetal ó animal, en suspensión.

2º. Materia orgánica disuelta.

3º. Organismos y gérmenes diversos.*

* No nos referimos á los organismos superiores, por más pequeños que sean relativamente, y que sólo por accidente pueden hallarse en aguas siquiera medianamente filtradas.

Como el análisis ó examen orgánico de las aguas es un procedimiento de investigación puramente químico, no podrá tomar en cuenta á estos últimos pequeñísimos organismos nada más que como si fuesen parte integrante de la materia inerte total.

Por otra parte, tratándose de las bacterias, principal objetivo en el estudio biológico de las aguas, es impotente el análisis para revelar en cualquiera forma, si más no sea la existencia de esos hongos ó algas microscópicas como meras partículas organizadas: tan infinitesimal es su masa.* I aún en el supuesto de que se llegara algún dia á una delicadeza tan maravillosa que permitiese estimar con exactitud la muy mínima cantidad de sustancia que basta para formar la extructura de millones y millones de esas células elementales, nada se habría avanzado con tal perfección de análisis, por cuanto los elementos últimos en que pudieran resolverse la membrana celular y el protoplasma en ella encerrado, son comunes á todas las especies hasta aquí estudiadas en ese sentido.

Determinados el carbono, el hidrógeno, el oxígeno y el nitrógeno ó, si se quiere, las imperceptibles proporciones de celulosa de la envoltura celular † y los elementos nitrogenados é hidrocarbonados del protoplasma, ni la más leve luz se tendría por eso sobre los caracteres biológicos, sobre la actividad específica tan diversa para cada especie bacteriana.

* La célula elemental del bacilo tífico, p. e. mide aproximadamente 3μ de largo por 1μ de grueso. Suponiendo que su densidad fuese doble aún de la del agua, necesitaríanse más de 160 millones de esas células para formar un miligramo.

† Se sabe que, generalmente, la membrana de las células está constituida por una sustancia no nitrogenada, semejante á la celulosa de la mayoría de las células vegetales superiores.

De donde se sigue, entonces, que podríamos reducir á los dos grupos primeros la clasificación anterior: al de la materia orgánica en suspensión y al de la materia orgánica disuelta. Con respecto al primero, esto es á las partículas suspendidas en la masa líquida, su variedad es ilimitada y depende en gran parte, naturalmente, de la procedencia del agua ; la cual, si de pozo profundo, hallaráse casi extenta de ellas, por no decir del todo inmune. Si, en cambio, tomamos uno ó más litros de agua superficial, ó que haya estado expuesta por cualquier motivo al contacto de la atmósfera, dejándola reposar por unas cuantas horas en un recipiente ó vaso de vidrio, veremos que se deposita en el fondo un sedimento más ó menos considerable. Examinado éste al microscopio, bajo un objetivo de 6 milímetros se observará que consta, fuera de las partículas minerales, de gran número de tenues corpúsculos, tales como epitelios, fibras musculares, gránulos de almidón, fibras leñosas, filamentos diversos, etc.; de los más variados restos, en fin, de origen animal y vegetal.

Todo esto, junto con la variedad de organismos microscópicos, incluso los últimos en la escala de la vida, como son las bacterias, forma la parte que pudiéramos decir visible, ó distinguible de alguna manera, de la sustancia orgánica del agua. La llamada materia albuminóidea, más ó menos insoluble por naturaleza, hállase en dicho estado, en unos ú otros de los productos á la ligera enumerados; á lo cual habrá que agregar quizá, para completar el grupo, ciertas sustancias de consistencia gelatinosa—como la gelatina misma—que en realidad no forman disolución.

El resto es materia orgánica disuelta, y su naturaleza ó carácter complejo por demás puede variar según el

origen del agua, y las condiciones diversas de temperatura, del tiempo en que este líquido haya podido estar en contacto con las partículas sólidas, etc. etc.

Cuando la contaminación es puramente vegetal y relativamente grande, tenemos lo que se llama un agua "turbosa," cuyos efectos sobre el individuo pueden apreciarse por los ejemplos dados más adelante.

Difícil sería precisar qué clase de cuerpos ó compuestos orgánicos son estos que pueden hallarse disueltos comunmente en las aguas usadas para las diarias necesidades y especialmente para la bebida, y contaminadas en la forma expuesta. En mucha parte trátase, á no dudarlo, de compuestos bien definidos, cristalizables muchos de ellos, pero que por la escasísima proporción en que se hallan presente con respecto á la masa de agua, insignificante influencia alcanzan á ejercer sobre el organismo.

Respecto á las aguas en diverso grado cargadas de infiltraciones excrementicias, aumenta el número y lo complejo de los cuerpos disueltos en ellas, y la importancia directa ó indirecta que el conocimiento de su carácter puede tener en el concepto higiénico. Puede decirse, en general, que son el resultado del "desdoble" de los principios albuminóideos ó protéicos de los alimentos. Seguro es que entre ellos existen, además, productos verdaderamente tóxicos, aún en mínima dosis, elaborados por esos mismos fermentos organizados que como sustancia ó masa propia, hemos dicho, escapan á todos los refinamientos del análisis químico. Referímonos á los complejos alcaloides de origen animal llamados *tomaínas*, cuya existencia en las aguas contaminadas por productos excrementicios no puede ser una mera

suposición, á lo menos en cierto período de la contaminación.

Alcance de los diversos métodos de examen orgánico. —Expuestos tales antecedentes, y designando todos los productos ó cuerpos que no sean sales metálicas ó gases bajo el nombre de *contaminación orgánica*, preséntase el problema de cómo determinarla químicamente ; esto es, de averiguar cuál es su grado en función de la cantidad ó peso de sustancia, y cuál su índole, de acuerdo con el origen vegetal ó animal de esta sustancia.

No hay medio para determinar lo primero en valor absoluto, ni es ello necesario dentro de ciertos límites y circunstancias que trataremos de precisar más adelante; y en cuanto al carácter más ó menos dañoso de la contaminación muy poco es lo que puede decir el examen orgánico, y solamente ayudado de otras determinaciones simultáneas, como ser la del cloro, del amoníaco ó de los nitratos, puede servir para establecer inferencias, y en vista de ellas y á falta de otros datos, para dar dictamen sobre la calidad de un agua.

Precisado el objeto del examen orgánico, veamos ahora cual es su limitado alcance, por causa de la imperfección de los métodos que le sirven de base, y que por lo mismo conviene discutir un poco más en detalle que lo hicimos en la INTRODUCCIÓN.

Desde luego, necesario será adoptar aquellos métodos ó procedimientos que á mayor facilidad y rapidez de aplicación aunen la cualidad de esclarecer, hasta cierto punto al menos, si la impureza del agua es simplemente de carácter vegetal, ó bien si tiene que ver con la existencia de productos orgánico-animales, principalmente excrementicios. La razón de esto último se verá principalmente al tener que hablar de la interpretación

que debe darse á los datos suministrados por el examen de que trata esta SEGUNDA PARTE.

a. Método de la incineración.—El primero de los métodos que se usaron para estimar la cantidad de la sustancia orgánica, y tan sólo la cantidad y no la naturaleza, fué el de la incineración del residuo fijo obtenido después de evaporar un volumen más ó menos considerable de agua. Calculando el peso de los sólidos antes y después de la incineración, suponíase que la diferencia representaba el peso de la materia orgánica volatilizada, es decir de toda la materia orgánica contenida en el volumen de agua vaporizada.

Compréndese sin mucha reflexión que el número resultante tendrá que ser exagerado, pues en él están incluidos, además: 1º, el peso del anhídrido carbónico correspondiente al carbonato de calcio descompuesto por la calcinación; 2º, el del agua correspondiente á alguna sal hidratada existente en el residuo y que se vuelve anhidra por la misma causa anterior: *v. gr.* el sulfato de calcio; y, 3º, el del ácido de las sales de magnesio.*

Otra causa muy notable de error en el mismo sentido es la descomposición de los nitratos y su cambio en carbonatos, en el supuesto de que para corregir los defectos anteriores se agregase previamente al agua cierta cantidad de carbonato sódico: de este modo, la sola diferencia entre el peso del HNO_3 perdido y el CO_2 recuperado en cambio, es mayor que el total mismo de sustancia orgánica.

Resultado final, entonces, es que la estimación de ésta por el procedimiento descrito adolece de grande exageración.

* El $MgCl_2$, por ejemplo, se convierte bajo la influencia del calor en MgO, experimentando así una pérdida de peso de cerca de 58 °/₀.

Verdad que en este carácter no hay razón por qué considerarlo mucho menos útil que los otros métodos usuales, pues si en el primer caso hay exceso, en el segundo existe disminución marcada, bastando recordar para esto que se trata de procedimientos indirectos que, p. ej., ó bien miden el amoníaco producido en ciertas condiciones, ó bien el carbono y el nitrógeno de la sustancia orgánica del agua.

Si los resultados de la incineración son constantes, el mismo valor comparativo tendrán que el de cualquiera de los otros métodos, como quiera que si según alguno de estos la relación de la materia orgánica entre dos muestras de aguas ensayadas es como 1 : 2, de igual suerte los números correspondientes á los ensayes respectivos por el procedimiento en discusión, hallaránse más ó menos también en la relación 1 : 2. I decimos más ó menos, porque no sería lógico suponer, si la sustancia es de muy diverso carácter en cada agua, que los efectos de la incineración fueran idénticos en cada caso.

Pero, repetimos, lo que el examen orgánico persigue principalmente, no es tanto la determinación exactísima del peso de sustancia, cuanto la averiguación del carácter y origen de ella. A este respecto sí que la incineración del residuo queda muy por debajo de cualquiera de los otros procedimientos actualmente usados, y su inutilidad es absoluta.

b. Método de la oxidación por el permanganato de potasio.—Destinado principalmente á calcular la materia orgánica en vista de la cantidad de oxígeno gastado en la oxidación parcial de esa materia, lo que importa entonces será aplicar el permanganato en las condiciones más adecuadas para producir : 1º, el máximum de efecto

en el sentido de la intensidad de la accion, y 2º, la reacción más característica en el sentido de exhibir el probable origen de la dicha materia orgánica.

En el CAPÍTULO IX. describimos los métodos particulares ó modificaciones del procedimiento general que poseen estas cualidades, hasta donde es posible exigir dado lo imperfecto y lo irregular de la acción del permanganato de potasio sobre la materia organizada.

Por vía de comparación conviene, siempre que sea posible, emplear más de una de estas modificaciones del método general en el mismo ensaye, pues de este modo los resultados serán más seguros, como que cualquiera discrepancia de monta sería signo cierto de equivocación de una ú otra parte, é indicaría la necesidad de repetir el ensaye.

Se ve claramente, después de las explicaciones dadas sobre el objeto del examen orgánico, y expuesta la imposibilidad de obtener resultados de valor numérico absoluto por su medio, que cualquiera de los métodos particulares fundados en el mismo principio, y debidos á Letheby, Tidy, Kübel, etc., pueden servir en reemplazo de los que hemos elegido como más á propósito. Sólo sí debe tenerse muy en cuenta que los datos de más valía resultan de la comparación, por cualquiera de los métodos, de una misma agua en diferentes períodos de tiempo, ó bien de aguas diversas simultáneamente ensayadas en una misma forma; y que si no se pone limitación al número de procedimientos empleados para el mismo fin, lo que se gana en variedad de informes se pierde en las contradicciones resultantes de la aplicación de tal diversidad de métodos.

Por ejemplo, la cantidad de oxígeno consumido por ciertas sustancias como el azúcar, el almidón, etc., de

acuerdo con las indicaciones suministradas por la aplicación simple y directa del permanganato de potasio, es cien veces menor, según Frankland, que la cantidad de oxígeno requerida para la total oxidación de esa materia. Mientras tanto, el procedimiento de la combustión húmeda, en los mismos casos acusa un gasto de oxígeno muy vecino á la cantidad realmente necesaria, según pretende Wanklyn.* Muy posible es de esta suerte que aguas casi puras tratadas en la última forma, resulten más cargadas de impureza orgánica que otras real y efectivamente impuras en ese sentido; pero que sometidas á la débil acción del metodo primitivo, no lo manifiestan.

Sobre la capacidad del método de la oxidación para distinguir el carácter de la contaminación, debemos decir solamente que es casi nula, pues fenómeno demasiado incierto para ser tomado en cuenta es el de la mayor rapidez de oxidación de las sustancias albuminoide-animales, comparado con las sustancias puramente vegetales. Hay, sin embargo una diferencia de acción que convenientemente utilizada vendría á esclarecer en parte el punto en cuestión. El químico frances Pouchet ha demostrado que las amidas y la urea no son sensiblemente atacadas, durante una ebullición de diez minutos, por una disolución alcalina de permanganato de potasio, en tanto que lo son por una disolución ácida de la misma sal. La diferencia de resultados obtenidos en ambas condiciones representaría la parte de acción que debe atribuirse á los productos de infiltración excrementicia animal. Es decir que la urea y algunos nitrocompuestos, no producen amoníaco, al revés de lo que sucede con la gran mayoría de las sustancia, orgánicas

* *Loc. cit.*, pág. 54.

nitrogenadas cuando se las calienta á 100°, en una fuerte disolución alcalina de permanganato.

c. *Método del amoníaco.* — Ampliaremos también, aquí, las reflexiones hechas en la INTRODUCCIÓN acerca del procedimiento basado en la conversión de la materia albuminóidea en amoníaco. Como se verá en el capítulo dedicado á su descripción práctica, aprovéchase el mismo ensaye para determinar el *amoníaco libre*, es decir el no resultante de la conversión inmediata de la materia orgánica por el reactivo; dato de suma importancia en ciertos casos, especialmente para averiguar la posible contaminación del agua por excreciones animales. Porque en éstas, al menos en un período dado, la presencia del amoníaco en fuerte proporción es constante; y salvo las aguas lluvias, por otro lado también harto impuras en general, todas las otras aguas naturales, como ser de fuentes, vertientes, ó pozos muy profundos, nunca traen consigo sino vestigios de amoníaco Luego, la probabilidad está por que toda agua que encierre cantidad notable de este cuerpo, lo deba á dicha contaminación.

No así tratándose del amoníaco albuminóideo, ó procedente de la conversión de las sustancias nitrogenadas á influencias de la disolución mangánica. Efectivamente, en este caso no sólo los productos animales, excrementicios, por ejemplo, son susceptibles de dar amoníaco bajo la influencia indicada, sino también la materia vegetal en gran cantidad presente en las aguas llamadas turbosas.

Consiste entonces la principal ventaja del procedimiento del amoníaco en dar á la vez dos indicaciones preciosas. I si aisladamente la última deja lugar á la duda que se desprende de lo expuesto en el párrafo

anterior, de consuno con el dato sobre el amoníaco libre puede en cambio confirmar ó desvanecer el pronóstico de contaminación del agua por sustancia de origen excrementicio.

Pero nada refuerza tanto conclusión semejante, como el estudio simultáneo de cierto número de aguas. En Valparaíso, por ejemplo, todas las de pozos situados en la parte plana de la población, cuyo subsuelo notablemente poroso se halla saturado, como es de suponerlo, de infiltraciones de las letrinas y de de los mismos conductos de desagüe, todas esas aguas, decimos, revelan cantidades considerables de amoníaco libre y albuminóideo, en especial del primero. De acuerdo con una serie de datos obtenidos con ensayes numerosos llevados á cabo en 1887, el amoníaco libre fué siempre superior á 0·20 miligramo por litro, y el albuminóideo, superior á 0·10 miligramo.

En vista de sólo estos datos y de los relativos á la localidad ¿sería posible dudar que se trata de aguas manifiestamente cargadas de productos de la excreción animal? Ciertamente que no, y aún cuando la gran proporción de cloro y de ácido nítrico indicada al mismo tiempo por los ensayes respectivos, no significasen nada en apoyo de esa suposición.

Mientras tanto, las aguas de las represas de la Quebrada Verde, situadas á grande altura y distancia de la población, dieron constantemente por la misma época excesiva cantidad de amoníaco albuminóideo y apenas vestigios de amoníaco libre (menos de 0·01 miligr. por litro). En cuanto á nitratos, nada; y en cuanto á cloruros, la proporción relativamente crecida de ellos, revelada por el ensaye (60 miligramos de cloro

por litro) no era sino resultado de la inmediata vecindad del océano.

Mucho menos que los datos sobre el amoníaco en su doble manera de distinguirlo, dice entonces el relativo al oxígeno consumido. En los ejemplos anteriores, comparando las aguas de las pozos con las de Quebrada Verde, de acuerdo con los miligramos de oxígeno empleados en la oxidación de la materia orgánica, nada se saca en limpio respecto al carácter de la contaminación. Es más: casos hubo en que mucho mayor cantidad de oxígeno consumido correspondió á las aguas vegetalmente impuras, de suerte que ateniéndose á los datos numéricos del procedimiento de la oxidación, deberíase haberlas considerado más malas é inadecuadas para la bebida que las de los pozos antes mencionados.

En conclusión, si el procedimiento del amoníaco no basta por sí sólo para llegar á formar criterio definitivo sobre la calidad de un agua, es sin duda el que mayores condiciones reune entre los procedimientos de su género destinados á formar parte en el conjunto de operaciones que constituyen el estudio químico de las aguas.

II.—Interpretación particular de los datos suministrados por el examen orgánico.

Consideraciones generales en que debe estar basada. —Así como al tratar de los compuestos minerales del agua formulamos los principios á que debía ceñirse la interpretación de los resultados obtenidos, de igual manera en el examen orgánico, comprendidos ya su objeto y su alcance, análogo proceder es indispensable,

á fin de sacar las conclusiones más útiles de los datos cuantitativos que arrojen los diversos ensayes practicados. Un punto, sin embargo, no tiene cabida aquí, y es el relativo á la ausencia de toda sustancia orgánica: no hay paridad en este caso con lo dicho acerca de ciertas sales minerales del agua, y cuya presencia en este líquido, si no absolutamente necesaria, es por lo menos de una utilidad fuera de toda discusión.

Entran, en efecto, dichos elementos salinos á suplir necesidades reales del organismo, el cual si no los toma del agua, tomarálos de otros productos líquidos ó sólidos que sirven para la alimentación. El principio fisiológico ya referido, según el cual se consideran elementos beneficiosos, entre los que constituyen el condimento de las aguas, aquellos de que necesita diariamente la economía, é inútiles, cuando no perjudiciales, aquellos de que no necesita, ó que elimina en las secreciones diarias, indícanos *á priori* que la ausencia de la materia orgánica, ó su presencia en mínima proporción, es signo de bondad en el agua usada para la bebida.

De lo cual resulta, entonces, que la interpretación de los datos que nos ocupa, requiere sólo hallarse sometida á los siguientes puntos:

a. Significado propio de la contaminación orgánica.

b. Significado de la misma con relación á los microorganismos que pueden desarrollarse en el agua, y á sus condiciones de existencia en este líquido.

Efecto propio de la contaminación orgánica.—Cou respecto á este primer punto, no es posible suponer que la acción propia de la sustancia orgánica sobre el indi-

viduo, dada la varia composición de esta, sea característica ó específica. Pero sí, existe abundante testimonio de que esa acción es de índole más ó menos perjudicial, proviniendo, sin duda, las diferencias observadas, de la variedad y proporción de los productos orgánicos ingeridos en el organismo, y de la constitución ó temperamento de las personas que hayan bebido un agua en tal forma contaminada.

Hay, con todo, diversidad de opiniones en cuanto á la importancia de los efectos atribuidos á las aguas cargadas de materia vegetal. Wanklyn, de acuerdo con sus observaciones propias y otros datos recogidos en Inglaterra, estima como muy dañosas para la salud semejantes aguas, y cita á este propósito, entre otros hechos, lo ocurrido en Biddulph Moor, á poca distancia de Leek. El agua de un pozo de aquel lugar tenía por cada litro :

Cloro	6 miligramos.
Amoníaco libre . . .	0·08 ,,
Amoníaco albuminóideo .	0·14 ,,

Pués bien, todas las personas que se hallaban en la necesidad de beberla, sufrían de diarrea.

Ekin,* por el contrario, dice que una buena agua potable puede contener ocasionalmente fuerte proporción de materia orgánica, puesto que si la de nitratos y cloruros es muy pequeña, sobre todo de los primeros, la contaminación será, segun todas las probabilidades, puramente vegetal y, por lo mismo, inofensiva. En apoyo de lo dicho aduce lo ocurrido años atrás en Bristol con el agua que servía para el proveimiento diario de esa ciudad. El examen revelaba

* *Loc. cit.*, p. 26.

gran cantidad de amoníaco albuminóideo, pero nada de notable en cuanto á cloro ó ácido nítrico. De donde se dedujo que la materia orgánica era de origen vegetal, y que el agua, aunque desagradable y hasta cierto punto inconveniente, era en todo otro concepto adecuada para la bebida. Ulterior investigación demostró que estas miras eran correctas: el depósito de alimentación hallábase cargado de vegetación confervóidea, removida la cual, desaparecieron todos los caracteres inconvenientes del agua.

Gautier,* refiriéndose á aguas más fuertemente contaminadas, sostiene que las diversas sustancias orgánicas causantes de la contaminación, no son en sí tan peligrosas como pudiera suponerse *a priori*. Dice al efecto que de las observaciones de Parent-Duchatelet, resulta que las aguas dotadas de olor pútrido, cargadas de las materias orgánicas procedentes de la preparación del cáñamo, pueden muy bien acarrear algunos flujos intestinales, *pero que no tienen en disolución ningún principio venenoso.*† El mismo Parent-Duchatelet, una parte de su familia, y varios enfermos de la clínica de Andral, dedicáronse durante varios días á beber de este líquido nauseabundo, sin sufrir accidentes notables.

W. P. Maron, del Instituto Politécnico de Troy, N.Y., en una comunicación al CHEMICAL NEWS ‡ refiriéndose á los experimentos del Dr. Emmerich, del Instituto Higiénico de Münich, sobre los resultados de beber un agua contaminada con los productos excrementicios de personas sanas, cita un caso parecido al anterior; si

* *Chimie appliquée á la physiologie, á la pathologie et á l'hygiène.*

† Hay que recordar que Gautier escribía esto en 1872.

‡ Vol. LV., No. 1429. 15 de abril, 1887.

bien se trata ahora no ya de impureza vegetal sino de verdadera contaminación animal. Toda una familia de Albany, N.Y., excepto uno solo de sus miembros, enfermó súbitamente á causa de haber bebido agua de una cisterna inficionada, según se descubrió después, por las infiltraciones de una letrina cercana. Variaron los síntomas desde naúseas intensas hasta gran postración de los atacados, sin ser ésta alarmante. Trascurrido un mes, todavía no habían desaparecido del todo los síntomas de esta especie de envenenamiento, siendo lo particular del caso que la única persona que quedó inmune, fué la que no había bebido agua de la indicada cisterna.

El análisis de esta agua dió para cada litro los siguientes excesivos resultados:

Cloro	46 miligramos.
Amoníaco libre . . .	15 ,,
Amoníaco albuminóideo .	2·80 ,,

Estos datos no explican de modo alguno, á lo menos directamente, los efectos perniciosos descritos más arriba, pero dicen demasiado claro que el agua contiene en exceso infiltraciones de productos excrementicios. Ahora bien, hoy día se sabe, gracias principalmente á los trabajos de Brieger en Alemania, y de Gautier y Bouchard en Francia, que tanto en las materias fecales como en la orina existen bases eminentemente tóxicas, elaboradas en parte por las innumerables especies de microbios que existen y se desarrollan en esas excreciones (Véase Parte III., Cap. X.).

Por fin, en Valparaíso mismo no ha faltado la oportunidad de observar la influencia más ó menos perjudicial de las aguas orgánicamente impuras; y debida

seguramente á la propia acción de la sustancia orgánica, y no á agente infeccioso específico, pues trátase sólo de perturbaciones intestinales de vario carácter.

Ha ocurrido esto principalmente con las tripulaciones de las naves extrangeras. Tenemos constancia de dos hechos de esta naturaleza. Ocurrio el primero en 1867 con la tripulación del buque de guerrà norteamericano Nyack, cuyo comandante hubo de elevar una comunicación á la autoridad del puerto, á causa de los malos efecto del agua de las norias de Valparaíso (no existía entonces la provisión actual) sobre los tripulantes de su nave. No era cuestión de epidemia con caracteres definidos, sino de diarrea y otros desarreglos de la misma naturaleza. Examinada el agua por orden de la autoridad, el informe,* dados los conocimientos de aquella época en materia de análisis de las aguas, nada pudo esclarecer; como que se limitó á señalar la presencia en el agua, de tales ó cuales compuestos minerales, que por sí mismos, y en la pequeña cantidad presentes, no debieron ser causa del mal. Es indudable que se trataba de un exceso de materia orgánica.

Más reciente es el otro ejemplo. En 1886, la corbeta de guerra italiana Cristoforo Colombo, apenas llegada á este puerto, tuvo que suspender el uso del agua recibida de tierra, y que recurrir en cambio á la de los condensadores, visto que la tripulación había empezado á enfermar.† Según nuestros informes, provenía el agua de la Quebrada Verde, cuyos estanques, algo

* Publicado en el diario *El Mercurio* de 27 de junio de 1867.

† Esta observación nos fué comunicada por el señor don Clemente Della Torre, teniente 1º de la marina italiana, embarcado en aquella época en la mencionada nave.

exhaustos con motivo de la seca del año contenían un agua cargadísima de materia vegetal.

No tuvimos oportunidad de examinarla sino en enero de 1887. La del estanque llamado Represa Grande dió por litro:

Cloro	60	miligramos.
Amoníaco libre . . .	0	,,
Amoníaco albuminóideo .	0·38	,,

El exceso de cloro en este caso no proviene sino de la ubicación marítima de la Quebrada Verde. La ausencia de amoníaco libre y la mínima cantidad de nitratos (1·8 miligramos de NHO_3 por litro, según un examen posterior) dejan ver de modo harto claro, que no se trata ni de sombra de contaminación animal. Luego preciso será atribuir el efecto dañoso, sola y exclusivamente al exceso de materia vegetal.

Lo singular en casos semejantes á los citados, es que sean las tripulaciones extrangeras, y no los habitantes mismos, las víctimas de esos malos efectos. Admite el hecho dos explicaciones: ó en tierra pasan inadvertidos, á causa de la costumbre, tales dañosos efectos, y no se les presta atención; ó bien, en fuerza de la constante acción de ellos, se llega á adquirir cierta inmunidad en presencia de una causa morbífica relativamente sin mayor alcance.

En vista de hechos acaecidos en Inglaterra, Francia, Estados Unidos, y entre nosotros mismos, lógico es suponer que se trata de una acción general, y no de casos aislados imputables á otra causa distinta de la enunciada; es decir, no á la materia orgánica en excesiva cantidad presente en el agua ó á los productos tóxicos resultantes ó no de la actividad microbiana. Haciendo

una división entre la contaminación de origen simplemente vegetal y la de origen excrementicio, veráse que cada una por su parte es dañosa á la salud, en mayor ó menor grado.

Despréndese de las anteriores observaciones, y de infinidad de otras en diversos lugares anotadas, que es preciso atribuir acción diferente á estas dos distintas formas de contaminación: orgánico-animal, y orgánico-vegetal; más grave para la primera, por tratarse acaso de verdaderos principios de intoxicación, y de menos dañosa influencia para la contaminación puramente vegetal del agua.

En ninguna de ellas hase tomado en cuenta la acción directa ó indirecta de los gérmenes que existen donde quiera que hayan condiciones favorables á su nutrimento y á su proliferación. Es indudable, sin embargo, cual queda ya indicado, que las propiedades tóxicas de la materia excrementosa ó putrefacta en general derívanse de la presencia en ella de alcaloides altamente venenosos, productos de la vida microbiana.

Relación entre la materia orgánica y los microorganismos del agua.—Hasta ahora hemos considerado los inconvenientes propios que acarrea ó puede acarrear para la economía la ingestión de aguas en mayor ó menor grado cargadas de sustancias vegetales ó productos excrementicios.

Por importante que sea en tal concepto la presencia de la materia orgánica, no lo es tanto, por cierto, como en el relativo al papel que esa materia desempeña en el nutrimento y multiplicación de las bacterias, ya inofensivas, ya real y verdaderamente peligrosas que pueden existir en las aguas destinadas á la bebida.

Para la discusión de este punto, menester es atenerse

á un orden muy distinto de consideraciones, en tal modo mas tracendentes que las expuestas en las páginas anteriores, que en la práctica llegan á ser casi las únicas tomadas en cuenta para juzgar de la calidad de un agua. Prescíndese, en buenos términos, de que la impureza orgánica, á veces insignificante en cantidad, pueda ser dañosa ó indiferente de por sí, para no ver en ella sino la posibilidad de una infección, harto más de temer, por gérmenes de enfermedades.

Son éstos, ciertas especies bacterianas, que en el carácter de tales no pueden vivir prósperamente en el agua pura, es decir que contenga nada más que principios salinos ; pero que poseen maravillosa actividad de proliferación cuando en ese líquido encuentran, aunque sea en ínfima cantidad, materia orgánica inerte, rica en carbono y en nitrógeno. A este respecto, los complejos productos ó desperdicios de la economía humana, son mucho más á proposito que la materia orgánico-vegetal, para la nutrición de las bacterias. Las sales amoniacales, la urea y algunos nitro-compuestos, abundan como es sabido en la materia excreta, y constituyen excelentes principios nutritivos.

Fuera de estas consideraciones, existe la de que dichas excreciones por su mismo origen pueden encerrar en muchos casos gérmenes patógenos para el hombre ; como sucede, *v. gr.*, con la infección tífica.

Por esta razón los datos cualitativos del examen orgánico de las aguas, son más de estimar que los muy exactos aún, que fueran capaces de revelar la verdadera proporción de materia orgánica. Poca ó mucha que ésta sea, sin datos acerca de su posible origen ó naturaleza constitutiva, nada se puede inferir racionalmente,

con respecto á los caracteres innocuos ó peligrosos de los microorganismos.

A lo sumo, la inferencia podrá llevarse hasta decir que mientras mayor sea la proporción de sustancia orgánica contenida en el agua, mayor será tambien el número de gérmenes capaces de multiplicarse en ella, aumentando por lo mismo las probabilidades de que puedan existir especies nocivas. Este modo de raciocinar es perfectamente aceptable en tesis general, pero con respecto al punto que nos ocupa no lo es, por cuanto la investigación experimental ha venido á probar que las condiciones de existencia de las especies microbianas se hallan vinculadas antes bien á la cuestión calidad del medio nutritivo que á la de masa. Es más: para algunas de esas especies un exceso de materia orgánica en el agua parece significar condición opuesta á la vitalidad y al desarrollo de las mismas. Así, por ejemplo Pouchet* que ha tratado de determinar las condiciones en que mejor se desarrolla y se conserva el bacilo tífico, dice que toda prolificación de este microbio cesa en los medios ricos en materia organizada; y que, al contrario, es activísima y duradera en el agua que podríamos llamar pura. Hállase de acuerdo el final de esta aseveración, deducida de experimentos rigurosos, con hechos de la vida real; siendo muchos y bien probados los casos en que aguas orgánicamente puras segun cuidadoso análisis químico, han dado origen á la fiebre tifoidea.†

Basta con lo expuesto para resolver que, relativa-

* G. Pouchet. "Conditions de developpement et de conservation du bacille typhique." Lectura hecha en la Academia de Medicina de Paris, en sesión de 26 de abril de 1887.

† V. el párrafo *Nitratos* en el Cap. I.

mente á las condiciones de existencia de ciertos gérmenes, á su vitalidad y al peligro de que existan en el agua, los datos cuantitativos del examen orgánico, cualesquiera sean los métodos empleados para obtenerlos, son de escasa importancia, comparados con aquellos que alguna luz arrojen sobre la naturaleza de la contaminación.

Y esto, á pesar de los resultados de algunos investigadores, tendentes á probar que hay relación entre la cantidad de materia orgánica y la existencia de los microorganismos. Meade Bolton * encontró, p. ej. que los bacilos tíficos necesitan para existir y desarrollarse en el agua 67 miligramos de materias nutritivas por litro, y 400 miligramos los espirilos del cólera. Pero estos resultados, demasiado absolutos numéricamente considerados, son indecisos y poco ilustrativos, si se tiene en cuenta que hay mucho que distinguir entre materia y materia, tratándose de la nutrición microbiana. En realidad, el proceso mismo de la nutrición exige el consumo de cantidades tan infinitesimales de sustancias adecuadas, que la escasísima impureza orgánica de ciertas aguas puede bastar á la extraordinaria actividad de desarrollo de algunas especies, siempre que por su composición constituya un alimento conveniente para las células.

Desde este punto de vista quedan al par las aguas manifiestamente cargadas de productos orgánicos con aquellas que el examen químico declara como muy puras.†

* Véase Flügge: *Les Microorganismes.* 2ª ed. francesa, Bruselas, 1887. Pág. 544.

† El trabajo de Strauss y Dubarry: *Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau* [Arch. de Méd. expér. t. I. 1889, p. 5],

En cuanto á las primeras, eso sí, existe la posibilidad de que arrastren ó contengan en suspensión partículas de cuerpos orgánicos que sean como otros tantos asientos ó criaderos de microbios ; especie de infección localizada de las aguas no filtradas siquiera industrialmente, y que puede encontrar su explicación en circunstancias diversas, como por ejemplo la de que se arrojen al agua desperdicios ó excreciones de coléricos ó de tíficos. En este último caso, sin embargo, todas las probabilidades están por que la infección sea general, aunque más ó menos intensa, si es dado expresarse así, según sean las cualidades nutricias del agua, y según la influencia ejercida por la temperatura.

Interpretación particular de los datos suministrados por el método del amoníaco y el de la oxidación.— Para interpretar en particular los datos numéricos obtenidos con los ensayes mencionados, hay que considerarlos con referencia al doble significado que, según

que ha aparecido después de escrito lo anterior, confirma plenamente las miras expuestas acerca de la materia orgánica de las aguas, en sus relaciones con la vida microbiana. Dicho trabajo termina así : "La "composición química de las aguas no ejerce influencia apreciable sobre "la duración de la vida de los microbios patógenos en estas aguas ; tan "largo tiempo viven cuando se les coloca en agua destilada, absoluta- "mente pura, como cuando se les deja en aguas más ó menos cargadas de "materias inorgánicas y orgánicas, tales como las aguas del Vanne y del "Ourcq.

"Forzoso es deducir de lo anterior que si las aguas más química- "mente puras llegasen á ser contaminadas por microbios patógenos no "ofrecerían garantía de ser más innocuas que la aguas en extremo "cargadas de materias orgánicas é inorgánicas. Inútil es insistir sobre "la importancia de este hecho, desde el punto de vista higiénico.

"Por último, para la mayor parte de los microbios patógenos, la vida "aún muy prolongada en el agua, no produce disminución apreciable de "la virulencia. Tan sólo el bacilo de la turberculosis parece hacer "excepción en tal sentido."

queda expuesto, tiene la contaminación orgánica de las aguas; es decir, debe tomárseles en cuenta, desde el doble punto de vista de la pureza orgánica y de la pureza biológica.

En sí mismos, nó obstante, carecen de mayor valor; por lo que, necesario es combinarlos en cuanto sea dable, con los datos relativos al cloro y al ácido nítrico.

Aún de esta manera las deducciones no pueden ser absolutas; pero dicho se está que basta un conjunto de signos sospechosos para rechazar terminantemente un agua destinada á la bebida; y así, las revelaciones del examen orgánico, aunque faltas de presición y de todo el alcance que fuera de desear, tienen utilidad indiscutible ante el criterio higiénico.

De acuerdo con estas miras, la tabla siguiente puede, hasta cierto punto, servir de guía; siempre que se tenga muy en cuenta que aún las aguas clasificables como muy puras pueden encerrar gérmenes morbíficos; y que sólo el examen bacteriológico, llegará á fijar en último término, si la contaminación es de carácter innocuo ó peligroso.

Limitándonos al procedimiento del amoníaco, pudiéranse también sentar las siguientes reglas generales para la acertada interpretación de los resultados numéricos:

1. Mucho amoníaco libre y albuminóideo, máxime si coincide con la presencia de fuerte dosis de cloruros y de nitratos, es signo de los más sospechosos de contaminación por productos excrementicios.
2. Falta de amoníaco libre, poco cloro y ácido nítrico, y mucho amoníaco albuminóideo, principalmente

si éste se desprende poco á poco durante la operación, son signos probables de contaminación simplemente vegetal.

TIPOS DE AGUAS.	MILIGRAMOS POR LITRO Ó PARTES POR MILLÓN.				
	NH_3 libre.	NH_3 albuminóideo.	Oxígeno consumido.	Cloro.	Ácido nítrico.
A. Muy puras .	– de 0·01	– de 0·01	– de 0·50	– de 20	– de 1
B. Potable común	– „ 0·05	– „ 0·10	– „ 1·00	– „ 40	– „ 10
C. Impura . .	+ „ 0·05	+ „ 0·10	+ „ 1·00	+ „ 40	+ „ 10

Observación.—Las cifras referentes al cloro y al acido nítrico tienen principalmente importancia cuando coinciden con mucho NH_3 libre; *v. gr.* 0·10 miligramos por litro. Los signos son entonces muy manifiestos de contaminación sospechosa.

CAPÍTULO VIII.

MÉTODO DEL AMONÍACO.

Principio del método.—El procedimiento de Wanklyn, Chapman, y Smith para el examen orgánico de las aguas, fúndase en que la albúmina desarrolla amoníaco cuando es sometida á la acción del permanganato de potasio en disolución fuertemente alcalina ;* á más, en que este amoníaco es perfectamente constante y estrictamente proporcional al monto de albúmina empleada, aunque no todo el nitrógeno de la albúmina, sino una parte, es en realidad trasformado en amoníaco.

Con referencia, empero, á las complejas sustancias albuminóideas de origen vegetal ó animal que existen en le agua, los resultados se hallan muy lejos de ser tan constantes y proporcionales, visto que algunas de esas sustancias abandonan todo ó casi todo su nitrógeno en forma de amoníaco, en tanto que el nitrógeno de otras transfórmase, en proporciones variables, en otros productos nitrogenados.

De todos modos, una vez obtenido el amoníaco por el medio indicado, no resta sino medirlo, para lo cual se recurre al reactivo de Nessler, reactivo tan sensible que puede patentizar hasta los más mínimos vestigios de amoníaco.

* Journal of the Chemical Society, 1867. Vol. V. (Ser. 2), 445.

Utiles y productos usados en el procedimiento.

Utiles necesarios (Fig. 11).

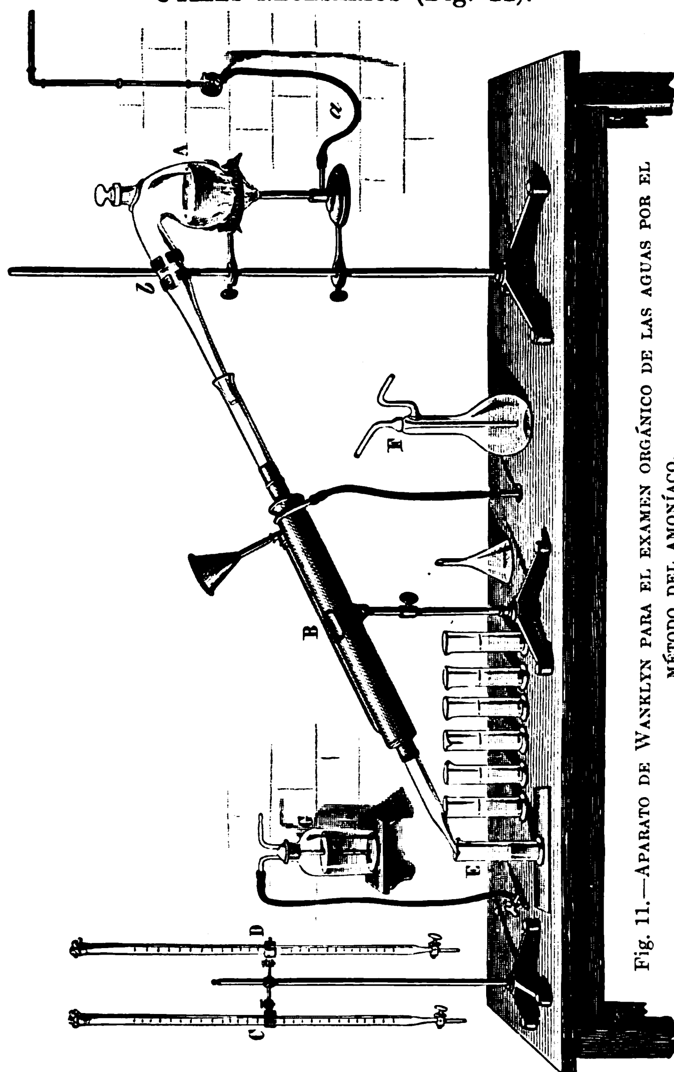


Fig. 11.—Aparato de Wanklyn para el examen orgánico de las aguas por el método del amoníaco.

1. *Un frasco* de 500 cc. (no representado en la figura) para medir exactamente la cantidad de agua que se necesita emplear en cada ensaye.
2. *Un embudo* de vidrio, para verter el agua en la retorta.
3. *Retorta* (A) de un litro de capacidad, tubulada y con tapa de corcho, ó mejor, esmerilada.
4. *Condensador de Liebig* (B), gran tamaño. El tubo central de vidrio tiene como 90 centímetros de largo por 2·5 de diámetro. Ajústase la retorta al tubo del condensador envolviendo en su extremidad una tira de papel blanco, limpio, hasta alcanzar diámetro suficiente para que el ajuste sea perfecto. Puede emplearse con ventajas, en reemplazo del papel, un trocito de tubo de caucho, perfectamente lavado, como de 3 centímetros de largo.
5. *Soporte* para la retorta y el *quemador*. El único sostén de la retorta debe ser la abrazadera (*b*), la cual, revestida interiormente de corcho, debe amoldarse exactamente á la forma cónica del cuello. Evítase de este modo el empleo de un anillo con tela metálica (representado en la figura) como apoyo para el fondo de la retorta, sistema, este último, lleno de inconvenientes. Cuanto más firme y macizo sea el soporte, tanto más cómoda será la operación de montar y desmontar el aparato todas las veces que son necesarias en el curso de un ensaye. Muy cierto es lo que dice Wanklyn sobre que mucha de la facilidad de su procedimiento depende del buen montaje de la retorta, la cual debe poderse sacar y reponer sin ningún tropiezo.

El mejor foco de calor es un buen quemador de Bunsen, cuya llama pueda cubrir ampliamente y sin cuidado alguno todo el fondo de la retorta, con tal de que nunca se estienda hasta la línea de nivel del líquido.

6. *Probetas* (E) para el ensaye de Nessler. Deben ser de vidrio perfectamente blanco, á fin de que no puedan encubrir en lo más mínimo la muy débil coloración amarillenta que produce el reactivo cuando hay sólo vestigios de amoníaco. Las probetas tienen más ó menos como 3 centímetros de diámetro por 15 de altura. A la debida distancia del fondo se traza, en cada una de ellas, una ligera marca, de modo que la capacidad señalada corresponda á 50 CC. Necesítanse de 6 á 7 probetas en cada operación, pero conveniente es tener, además, algunas de repuesto.
7. *Dos buretas graduadas* (C, D) de 100 CC. con llaves de vidrio y montadas en un soporte *ad hoc.* Sirven para contener, la una, la disolución graduada de cloruro de amonio, la otra el reactivo de Nessler. Esta disposición es más comoda que la de tener medidas ó buretas sueltas.
8. *Una medida graduada*, de pié y de 50 CC. (no representada). Sirve exclusivamente para la disolución alcalina de permanganato potásico, usada en dosis de 50 CC. cada vez.
9. *Un frasco especial*, para el permanganato, y un pequeño embudo para verter esta disolución en la retorta.

Todos los útiles de vidrio deben mantenerse siempre escrupulosamente limpios, á más de lavarlos muy bien

con agua destilada inmediatamente antes de emplearlos en su respectivo servicio.

PRODUCTOS Y REACTIVOS.

1. *Agua destilada.*—Merece una cuidadosa preparación si se quiere obtener la mayor delicadeza en el ensaye. Hay que evitar que contenga siquiera huellas de amoníaco, así como para el procedimiente de la oxidación, descrito más adelante, se exige completa limpieza con respecto á materia orgánica. Libre de una y otra impureza se obtiene este producto indispensable para el análisis orgánico, destilando primero buena agua común, ó mucho mejor todavía, agua filtrada por el filtro de porcelana (Fig. 27, p. 241), en un alambique cualquiera, perfectamente limpio; y re-

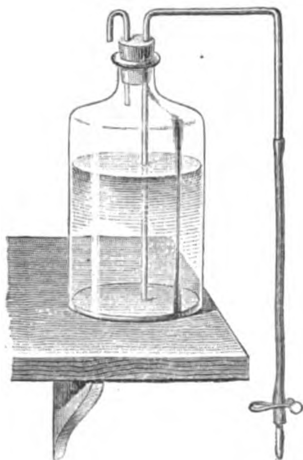


Fig. 12.—FRASCO SIFÓN PARA EL AGUA DESTILADA.

destilando el agua, en seguida, en una retorta de vidrio como la del aparato recién descrito (Fig. 11). La

redestilación se debe hacer evitando que el agua se evapore muy rápidamente, previa agregación en la retorta de una pequeña cantidad de sulfato ácido de potasio, para retener el amoníaco. Además de esta precaución conviene la de no recoger las primeras porciones de la destilación, salvo que, sometidas á la prueba del reactivo de Nessler, no den señales de amoníaco. Innecesario es recomendar la limpieza mas escrupulosa de los frascos ó recipientes en que se recoja el agua destilada. Facilítase mucho el continuado empleo de cortas dosis de ella en el ensaye por el amoníaco, teniendo el líquido á mano en un frasco sifón como el representado en la Fig. 12.

2. *Reactivo de Nessler.*—Consiste en una disolución de yoduro de potasio saturada de yoduro mercúrico, y fuertemente alcalinizada con potasa ó con soda: ó, en otros términos, de yoduro potásico-mercúrico alcalino ($HgI_2,KI + nKHO$). Produce en todo líquido que contenga amoníaco ó una sal amoniacal, un precipitado moreno rojizo de yoduro oxidimercuriamónico cuya fórmula es NH_2Hg_2OI. La reacción que se produce al mezclar este reactivo con una disolución de cloruro amónico, puede representarse por la siguiente ecuación: $2HgKI_3 + 4KOH + NH_4Cl = NH_2Hg_2OI + 5KI + KCl + 3H_2O$.

Si no hay en el líquido más que muy pequeña cantidad de amoníaco se produce, en vez del precipitado, una coloración amarillenta más ó menos intensa.

Para preparar el reactivo se toma:

Yoduro de potasio . .	35 gramos.
Bicloruro de mercurio .	13 ,,
Agua destilada . . .	800 cc.

Echese todo en un matraz ó cápsula; caliéntese la

mezcla gradualmente hasta el hervor, cuidando de revolverla en tanto las sales no se hayan disuelto en su totalidad. Agréguese, en seguida, poco á poco, una disolución saturada en frío de cloruro mercúrico, hasta que empiece á ser permanente el precipitado de yoduro de mercurio que se forma al caer en el líquido cada gota de la disolución.

De este modo se obtiene la de yoduro potásico saturada de yoduro mercúrico, y sólo falta hacerla suficientemente alcalina para que sea sensible. Consíguese esto agregando:

Potasa cáustica pura . 160 gramos.

ó bien:

Soda caústica pura . . 120 ,,

Por último, se agrega agua destilada hasta completar 1000 cc. de disolución. Para dar el máximum de sensibilidad al reactivo de Nessler agrégasele aún, un poco de la disolución saturada en frío de cloruro mercúrico, y se le deja asentarse. Cuando ha sido debidamente preparado, su tinte es ligeramente amarillento, y si éste resulta del todo claro, de seguro no es sensible el reactivo, y requerirá para serlo que se le agregue disolución mercurial. Se conserva indefinidamente bien si se le guarda en un frasco amarillo, ó, si no, al abrigo de la luz. Cada vez que sea necesario se saca cierta cantidad, que se echa en una de las buretas mencionadas anteriormente.

3. *Disolución de cloruro de amonio.* (NH_4Cl).—La sal amoníaco del comercio sirve para preparar esta disolución, que en la proporción *a*, contiene un miligramo de NH_3 por centímetro cúbico.*

* $\underset{53{\cdot}5}{NH_4Cl} = \underset{17+36{\cdot}5}{NH_3HCl}$, de donde la proporción 17 : 53,5 : : 1 : 3,147, ateniéndonos á los pesos moleculares respectivos.

a.	Cloruro de amonio	.	3·147 gramos.
	Agua destilada	. .	1000 cc.
b.	Disolucion *a* .	. .	10 cc.
	Agua destilada	. .	990 cc.
c.	Disolucion *b* .	. .	5 cc.
	Agua destilada	. .	45 cc.

Contiene la disolución *b*, 0·01 miligramo de NH_3 por cada centímetro cúbico, y es la de fuerza más conveniente en los ensayes. La disolución *c*, según es fácil verlo, no contiene sino 0·001 miligramo de NH_3 por centímetro cúbico. Se prepara sólo ocasionalmente. Vertiendo en ella, gota á gota, 2 cc. del reactivo de Nessler, tomará una coloración amarillenta si el reactivo es bastante sensible.

4. *Disolución alcalinizada de permanganato de potasio.*

Permanganato de potasio puro	8 gramos.
Potasa cáustica pura . .	200 ,,
Agua destilada . . .	1000 cc.

Se hace hervir lo anterior en un matraz con el fin de que desaparezca hasta la última huella de amoníaco ó de materia orgánica nitrogenada y una vez evaporada como la cuarta parte del líquido, suspéndese el hervor y se agrega á la disolución agua destilada hasta enterar 1000 cc. En cada ensaye se emplean 50 cc. es decir 10 gramos de potasa y 0·4 gramo de permanganato. Es indispensable preservarla de toda contaminación por partículas orgánicas, cosa difícil dada la frecuencia con que es necesario estar destapando el frasco en que se guarda. La única manera de evitar este inconveniente es conservar el líquido en un frasco (todo de vidrio) como el representado en la fig. 13, de manera que para sacar cada vez los 50 cc. de permanganato no

haya sino que soplar suavemente por el tubo corto, previo lavado en agua destilada de la extremidad externa del otro tubo. Cualquier combinación análoga será de gran utilidad. Se puede probar que á la larga la disolución permangánica guardada en frascos comunes no está

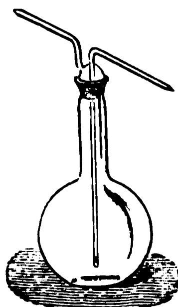


Fig. 13.—Frasco para las disoluciones de permanganato potásico.

en regla, agregando de ella los 50 cc. de estilo á la retorta cargada con medio litro de agua destilada, enteramente privada de amoníaco: el reactivo de Nessler revelará la presencia de este cuerpo en el agua resultante de la destilación de la mezcla indicada.

5. *Disolución saturada de carbonato sódico.*—Tiene por objeto expulsar el amoníaco de las sales amoniacales que pueda haber en el agua; es decir cuando ésta es de reacción ácida. La adición de carbonato sódico no es necesaria para las aguas que contienen carbonatos alcalino-terrosos, caso el más general. Pero en la eventualidad de que ocurra lo primero, será necesario agregar á los 500 cc. de agua ensayada 10 cc. de la dicha disolución saturada de carbonato sódico, privada por la ebullición de todo vestigio de amoníaco. En defecto de la disolución pueden emplearse unos cuantos gramos de la misma sal recién calcinada.

Detalles de la operación.—Completos los elementos de la doble enumeración anterior, y lavada la retorta antes de colocarla en su soporte, primero con un poco de ácido sulfúrico ó clorhídrico y después, repetidas veces con agua buena común, se procede al ensaye en la forma siguiente:

Viértese en la retorta por medio del embudo respectivo, medio litro del agua que se va á ensayar, valiéndose para medirlo, del frasco de 500 cc. dedicado exclusivamente para esta parte de la operación.

Se pone, en seguida, en el gollete el tapón de corcho escrupulosamente limpio, y se enciende el quemador de Bunsen. En los primeros momentos se condensa el vapor de agua procedente de la combustión del gas, en el fondo frío de la retorta; y así, mientras no se eleve la temperatura hasta la desaparición de ese fenómeno, conviene pasear la llama en todo sentido; después se la deja en reposo y aplicada de lleno contra el vidrio desnudo, pero sin que llegue en ningún caso al nivel superior del líquido.

En unos cuantos minutos hierve el agua y empieza á caer destilada y gota á gota en la pequeña probeta E (Fig. 11) que se tiene apercibida de antemano en esa posición. Una vez recogidos 50 cc. de la destilación, sustitúyese sobre la marcha la probeta que llamarémos No. 1, por la No. 2, ésta por la No. 3, y ésta última por la No. 4, hasta enterar de este modo 200 cc. En estas cuatro probetas, y en proporción decreciente de la primera á la última, está todo el *amoníaco libre* del medio litro de agua ensayada, amoníaco que se determina ó dosifica durante esta primera parte de la destilación, en la forma indicada más adelante.

Destilados los 200 cc. de agua y con ésta el amoníaco libre, se apaga la lámpara por un momento, se destapa la retorta y con las precauciones y utensilios ya indicados se vacian en ella 50 cc. de la disolución alcalina de permanganato; se vuelve á tapar la retorta y se enciende nuevamente el gas: empieza la segunda parte de la operación, cuyo objeto es determinar el *amoníaco albuminóideo.*

En menos tiempo que la primera vez entra en ebullición el líquido, y comienza á destilar. Se le recoge en porciones de á 50 cc. en las probetas Nos. 5, 6 y 7 hasta enterar únicamente 150 cc., en los cuales se halla todo el dicho amoníaco albuminóideo.

La duración de cada ensaye, no habiendo tropiezos, es como de una hora.

Observacion importante.—Cuando empieza á hervir el líquido en esta segunda parte de la destilación se presentan dos peligros de que es necesario precautelarse, á fin de no ver inopinadamente malograda toda una laboriosa operación como es la descrita. Proviene el primero de que al alzar el hervor la mezcla de agua con el permanganato alcalino, la reacción es tan viva, principalmente si hay exceso de materia orgánica, que el líquido es lanzado en parte hacia el cuello de la retorta, y por consiguiente al condensador y á la probeta receptora. Para evitar los efectos de este fenómeno del primer momento, menester es ante todo disminuir la llama y sostener en mano el quemador á fin de retirarlo apenas empiece á subirse el líquido. Después, cesa todo inconveniente por este lado. El segundo peligro es el de ruptura de la retorta, principalmente al fin de la operación, cuando por causa de la menor cantidad del líquido y su mayor concentración, el punto á que llega

la temperatura es muy elevado. Por esto conviene evitar toda corriente de aire y el empleo de retortas de calidad inferior. De todas suertes, es casi una necesidad tener á mano una retorta de reemplazo, lavada y lista para el caso.

Estimación cuantitativa del amoníaco.—Se efectúa por medio del reactivo de Nessler.* Con el fin de aprovechar el tiempo se empieza la nesslerización apenas destilados los primeros 50 cc. de la probeta No. 1. De las dos buretas C y D (Fig. 11), la una está llena con disolución amoniacal *b*, y la otra con el indicado reactivo.

Abriendo la llave de està bureta se dejan caer poco á poco sobre los primeros 50 cc. de la destilación, 2 cc. del reactivo, con lo cual el líquido, después de agitado con una varilla de vidrio, toma une coloración amarillenta uniforme, tanto más intensa cuanto más elevada ha sido la proporción de amoníaco destilado con el agua. Resta ahora preparar una disolución artificial de amoníaco, de una fuerza conocida tal, que con 2 cc. del reactivo produzca una coloración de la misma intensidad que la de la probeta No. 1.

Con este objeto, en una nueva probeta muy limpia, è idéntica á las otras siete de la serie, y que llamaremos *probeta nesslerizadora*, se vacian á título de experimento previo, 1 á 2 cc. de la disolución amoniacal *b*, de la bureta, y se completan los 50 cc. indicados por la raya, con agua destilada del frasco G. Agrégase á todo esto, agitando bien la mezcla, la dosis normal, ó sean 2 cc. de reactivo, y se coloca la probeta al lado de la No. 1, y

* En obsequio de la brevedad, emplearemos los neologismos *nesslerizar*, *nesslerización*, etc., para expresar la operación de determinar el amoníaco por medio del reactivo de Nessler.

ambas sobre una plancha de porcelana blanca (ó en su defecto sobre un papel muy albo), y en una buena posición con respecto á la luz: si mirados en iguales condiciones, y especialmente de arriba hacia abajo por encima de las probetas, los dos volumenes líquidos resultasen por casualidad de idéntico tinte, querría esto decir que la probeta No. 1 encerraba también 0·01 ó 0·02 miligramo de NH_3, según hubiese sido la cantidad de disolución amoniacal empleada.*

Raras veces, sin embargo, se acierta en esta primera nesslerización, por lo cual, ateniéndose á sus resultados aparentes, habrá que aumentar ó que disminuir, según sea el caso, la cantidad de amoníaco al repetir la prueba. Con un poco de práctica, después de orientarse de la manera indicada, casi nunca es necesaria más de una segunda comparación, y todo el procedimiento de la nesslerización llega á ser sencillísimo y susceptible de grande exactitud y rapidez. A este respecto diremos que la delicadeza del método es tal, que en las mejores condiciones de observación, no es difícil poder apreciar una diferencia de 0·001 miligramo de NH_3 entre dos disoluciones de débil tinte. En la práctica usual, no obstante, este ensaye colorimétrico da sus indicaciones más precisas cuando los 50 cc. de líquido encierran entre 0·002 y 0·005 de miligramo de NH_3, sin perjuicio de poder extenderse esos límites, de acuerdo con lo

* En la nesslerización no se puede adoptar el camino más directo de mezclar previamente el reactivo con los 50 cc. de agua destilada, y en seguida agregar gota á gota la necesaria cantidad de disolución amoniacal: 1°, porque el volumen total de líquido no sería constantemente de 52 cc., y así iguales cantidades de amoníaco producirían distintas intensidades de coloración; y, 2°, porque procediendo en tal forma, se produce cierta turbiedad en el líquido y las disoluciones turbias, aunque o sean ligeramente, son muy difíciles de comparar.

anteriormente dicho, á 0·001 y 0·002 respectivamente, si se adoptan las debidas precauciones.

Se ha dicho que para comparar las disoluciones era menester colocarse en las mejores condiciones de luz, y observar las columnas líquidas principalmente á través de sus ejes respectivos; pero es evidente que un examen simultáneo de ambas probetas desde distintos puntos de vista contribuirá á la formación del concepto final. Por otra parte, para facilitar y hacer más exacta la observación se puede echar mano de artificios variados, como ser escalas de coloraciones graduadas, etc.; mejor es, todavía, emplear un buen colorímetro, aparato muy útil cuya aplicación no se limitará á la dosificación descrita solamente, sino que tendrá cabida en otras determinaciones del análisis ó examen químico de las aguas.

Entre muchos otros de estos aparatos se pueden recomendar para el caso, el colorímetro descrito por Ridsdale en el *Journal of the Society of Chemical Industry*, No. 11, Vol. V.; y el construido por la casa J. Dubosq, de Paris.

Una vez calculado el amoníaco de la probeta No. 1, por el medio antedicho, no hay necesidad de ejecutar análoga operación con el de las tres siguientes, porque resulta de las observaciones de Wanklyn que invariablemente el NH_3 de los primeros 50 cc. está en la relación de 3 : 4 con amoníaco libre total. De suerte que con agregar un tercio de su valor al número obtenido, se tendrá el número definitivo (Véase el ejemplo dado más adelante), y la determinación del NH_3 libre quedará hecha antes de empezar la segunda parte del procedimiento.

La cual tiene por objeto la dosificación del NH_3 albuminóideo, y consiste, ya se dijo, en destilar las porciones

correspondientes á las probetas Nos. 5, 6 y 7, una vez hecha la adición de permanganato alcalino al agua que queda en la retorta; y en nesslerizarlas exactamente como se hizo con los primeros 50 cc. destilados, siendo sí, necesario ejecutar esta operación sucesivamente con el agua de las tres probetas y sumar los números obtenidos para conocer la cifra que expresa la totalidad del amoníaco dicho albuminóideo.

Como el volumen de agua tomado para el ensaye es de 500 cc., con multiplicar por 2 los resultados anteriores, quedarán determinadas las respectivas cantidades de amoníaco libre y de amoníaco albuminóideo correspondientes á 1 litro.

Observaciones.—1ª. Las disoluciones que resultan muy teñidas después de agregado el reactivo, son difíciles de nesslerizar. Sucede esto cuando las proporciones de amoníaco son considerables; en tal caso hay que diluir el agua en ensaye con agua destilada, *v. gr.*, 100 cc. de la primera con 400 cc. de la segunda, y proceder como de ordinario. Es claro que, en este supuesto, habrá que multiplicar los resultados que se obtengan por 10 para tener las cifras correspondientes á 1 litro.

2ª. Débiles ó intensas, según la indica Nessler, las disoluciones de igual color no encerrarán la misma cantidad de amoníaco si no tienen la misma temperatura. Conviene, por esto, sumergir á la vez, por unos cuantos momentos en agua fría, tanto la probeta que se va á nesslerizar como la nesslerizadora, después de agregados los 2 cc. de reactivo á cada una.

3ª. Las disoluciones turbias son difíciles de nesslerizar. Resulta con ese carácter la de la probeta nesslerizadora cuando en vez de agua destilada se emplea agua común,

con diversas sales en disolución, aunque se halle libre de amoníaco.

Ejemplos.

Los siguientes son tomados del libro de apuntes del Laboratorio.

	Probetas.		Disolución amoniacal *b*, empleada en la probeta nesslerizadora.		Cantidades correspondientes de NH_3, en miligramos por litro ó partes por millón.
1. El Salto (Valparaíso). Enero 1887.	No. 1	–	0·1 cc.	=	0·001
	„ 2, „ 3, „ 4	–	$\frac{1}{3}$ de lo anterior	=	0·0003
					0·0013
					× 2
				Total :	0·0026 NH_3 libre.
	„ 5	–	0·25 cc.	=	0·0025
	„ 6	–	0·10 cc.	=	0·0010
	„ 7	–	...		...
					0·0035
					× 2
				Total :	0·0070 NH_3 album.
2. Quebrada Verde (Valparaíso). Enero 1887.	No. 1	–	0·4 cc.	=	0·004
	„ 2, „ 3, „ 4	–	$\frac{1}{3}$ de lo anterior	=	0·0013
					0·0053
					× 2
				Total :	0·0106 NH_3 libre.
	„ 5	–	6·9 cc.	=	0·069
	„ 6	–	2·6 cc.	=	0·026
	„ 7	–	1·0 cc.	=	0·010
					0·105
					× 2
				Total :	0·210 NH_3 albumin.

Ensaye con 100 cc. de agua.—Puédese aún emplear el pequeño aparato representado en la fig. 14, (cuya parte esencial se llega á simplificar todavía más, como lo indica la fig. 15), para el examen orgánico de las aguas por el método del amoníaco.

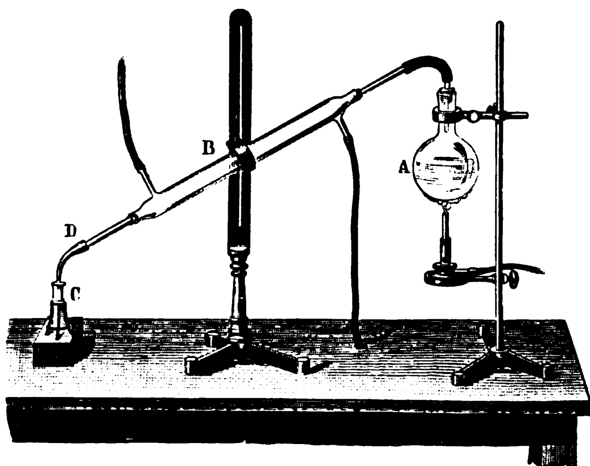


Fig. 14.—Pequeño aparato para la determinación de la materia orgánica por el método del amoníaco.

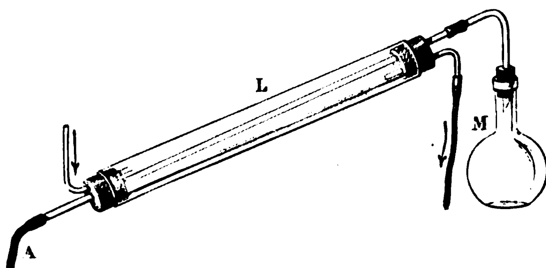


Fig. 15.—Simplificación del aparato anterior.

En lugar de la retorta de 1 litro se toma una pequeña retorta ó matraz de capacidad cuatro veces menor; y

en lugar de 500 cc. de agua, tan sólo 100 cc. en cada ensaye. La marcha de la operación es idéntica á la descrita para el procedimiento en mayor escala; pero no ya 50 cc. sino 10 cc. de agua se recogen en cada destilación, por lo cual hay que reducir de 2 cc. á 0·5 cc. la dosis de reactivo en las nesslerizaciones. La de disolución alcalina de permanganato se reduce á 10 cc.

Las probetas se reemplazan por pequeños tubos de ensaye (1·5 ctm. de diámetro por 10 ctm. de altura, más ó menos) enfilados en un soporte común; Pero, así el tubo nesslerizador, como el que está recibiendo la destilación, necesitan un ligero soporte *ad hoc*, para la facilidad de su manejo. (Fig. 16.) En la misma proporción ó de análoga manera se reemplazan los otros utensilios, menos las dos buretas con los reactivos, que pueden ser las mismas descritas.

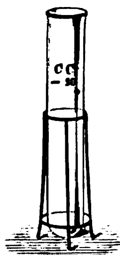


Fig. 16.—TUBO NESSLERIZADOR EN SU SOPORTE.

Esto, en cuanto al aparato.

Por lo que toca á las precauciones especiales que es menester tomar, helas aquí, sumariamente expuestas:

El pequeño recipiente (matraz ó retorta) y el condensador necesitan limpiarse escrupulosamente, de suerte que no conserven ni vestigios de amoníaco. A este fin se carga el primero con agua buena común, y 10 cc. de la disolución usual de permanganato de potasio. Una vez que el producto de la destilación no revela el menor signo de amoníaco al ser tratado por el reactivo de Nessler, desmóntase el aparato, y se lava ó enjuaga el matraz con agua de la misma que se va á ensayar. Terminado un ensaye, no hay necesidad de repetir el lavado en la misma forma antedicha, visto que al

apagarse la lámpara queda todavía un exceso de permanganato no descompuesto en el líquido remanente, y las condiciones son iguales á las que se habían prescrito para el lavado preventivo.

Los pequeños tubos deben también limpiarse con particular esmero, á fin que conserven toda la transparencia debida, y permitan distinguir la más insignificante variación de tinte, en las diversas nesslerizaciones.

Por último, la bureta con la disolución amoniacal, debe permitir la exacta medición de los décimos de centímetro cúbico.

En estas condiciones puede llevarse la delicadeza del ensaye hasta apreciación de diferencias de $\frac{1}{1000}$ de miligramo de amoníaco, máxime si se concentra la atención al reborde líquido formado por la capilaridad en los tubos con las disoluciones en comparación; reborde en que el tinte es más decidido.

EJEMPLO.

El Salto. Julio de 1887.

Probetas.		Disolución amoniacal empleada.		Amoníaco, en miligramos por litro ó partes por millón.	
No. 1	–	0·2 cc.	=	0·002	
„ 2, „ 3, „ 4	–	⅓ de lo anterior	=	0·0007	
				0·0027	
				× 10	
			Total:	0·027	NH_3 libre.
„ 5	–	0·6 cc.	=	0·006	
„ 6	–	0·2 cc.	=	0·002	
„ 7	–	0·1 cc.	=	0·001	
				0·009	
				× 10	
				0·09	NH_4 album

He aquí los resultados del examen por el método del amoníaco obtenidos con diversas aguas. La primera serie de la tabla pertenece á los autores del procedimiento, y se refiere á la provisión de Londres:

Fecha.	Aguas.	Miligramos por litro ó partes por millón. NH_3 Libre.	Albuminóideo.
1867.			
Julio	West Middlesex	·01	·06
,,	Grand Junction	·01	·07
,,	Chelsea	·01	·07
,,	Southwark and Vauxhall	·03	·16
,,	Lambeth	·02	·14
,,	New River	·01	·05
Junio	East London (Río Lea)	·03	·09
1872.			
Febrero	Kent Company	·01	·02
Noviembre	Id.	·01	·02
1887.			
(1) Enero	El Salto (Valparaíso)	·00	·00
Julio	Id. id.	·03	·09
Diciembre	Id. id.	·025	·10
,,	Id., pasada por filtro Chamberland	·025	·04
Enero	Quebrada Verde	·010	·15
(2) Diciembre	Santiago, agua potable	·00	·26
Febrero	Viña del mar, pozo vertiente	·00	·04

Observaciones.—(1) En la fecha indicada esta agua, procedente de pozos profundos cavados en el lecho del estero de El Salto, era en todo concepto irreprochable, según los diferentes métodos de análisis. Meses más tarde, con las grandes lluvias del invierno, y con los trabajos emprendidos para conseguir mayor caudal de agua, la calidad de ésta desmejoró notablemente. (2) Agua de manantial muy pura en su origen, pero en grado sumo contaminada (vegetalmente al parecer) en la epoca del ensaye. El dato apuntado se refiere al agua tomada de la cañería en la ciudad, *después de ensuciamiento,* manifiestamente debido á imperfecta conducción del agua. Mientras tanto el dato concerniente á la Quebrada Verde

tiene que ver con *el agua misma de los depósitos* traída directamente por cañería á la ciudad. Una muestra tomada directamente en la "Represa grande" dió 0·38 miligramo por litro de amoníaco albuminóideo, cantidad excesiva. Llamamos la atención sobre este particular en apoyo de lo dicho en la INTRODUCCIÓN acerca del escaso valor de los simples datos numéricos, si no se toman en consideración ciertos antecedentes, al tratarse de calificar la calidad de las aguas. En el caso presente se comparan dos muestras tomadas en condiciones especiales; no sería legítimo deducir que las aguas en su origen se hallan en la misma relación en cuanto á calidad, entendiendo por origen, para la primera, el caudal formado por la Quebrada de Ramón y para la segunda, las aguas acumuladas en las represas de la Quebrada Verde.

CAPÍTULO IX.

MÉTODOS DE LA OXIDACIÓN POR EL PERMANGANATO DE POTASIO.

DIJIMOS, al hacer la crítica del procedimiento general basado en la oxidación por el permanganato, que las cantidades de oxígeno consumido no son constantemente proporcionales á las de materia orgánica presente, dada la varia y compleja composición de esta última. De suerte que en este caracter el método de la oxidación correspondería casi exactamente á la determinación recién descrita del amoníaco albuminóideo, á no suceder á veces que las indicaciones respectivas de ambos métodos tienden á apartarse en sentido opuesto: es decir que á un gran consumo de oxígeno señalado por el primero corresponde una pequeña producción de amoníaco por el segundo, y viceversa. Por lo común, sin embargo, hay cierta proporcionalidad á paralelismo de acción y sucede que tan grande es la evolución de amoníaco como el consumo de oxígeno.

A estar á los siguientes ejemplos existiría cierta paridad en los resultados cuando la contaminación es exclusivamente de carácter vegetal, y no así cuando se trata de aguas contaminadas por deyecciones animales:

	Aguas.	Miligramos por litro ó partes por millón. NH_3 Libre.	Albuminóideo.	Oxígeno consumido.
	—			
Contaminación vegetal.	El Salto (Enero 1887),	·004	·006	·38
	id. (Diciembre 1887),	·027	·100	2·50
	Quebrada Verde (Enero 1887),	·010	·150	5·40
	Santiago (Diciembre 1887),	·001	·260	7·00
Contaminación animal.	—			
	Pozo (subsuelo de Valparaíso),	·080	·100	7·85
	Rio Valdivia (ciudad),	2·660	·890	9·40

Es de advertir que en ambos métodos, el permanganato fué usado en disolución alcalina y que, empleando disolución ácida para el segundo, acaso las relativas proporciones fueran diferentes.

Hecha esta prevención que por único objeto tiene mostrar las relaciones que entre los dos métodos generales de examen orgánico de las aguas descritos en esta Parte existen, consignaremos las siguientes observaciones que se relacionan con el empleo del permanganato como medio de determinar la materia orgánica de las aguas.

1ª La disolución mangánica para oxidar dicha materia puede ser alcalina ó ácida ; en un caso, ciertos compuestos orgánicos son de preferencia atacados ; en el otro, experimentan fácil oxidación, compuestos que en la condición alcalina del líquido son más difíciles de atacar, p. ej. la urea.

2ª El álcali empleado, hidrato de sodio ó el bicarbonato, no ejerce acción reductora alguna sobre el permanganato, aún á la ebullición ; en tanto que las

dissoluciones ácidas de este cuerpo experimentan reducción bajo la acción prolongada de la temperatura, aunque no exista en el líquido la menor cantidad de materia orgánica.

3ª Hay otras causas que pueden producir este fenómeno de la reducción en ausencia de la materia orgánica: por ejemplo el ácido nitroso y el amoníaco ejercen también la misma acción. Si estos cuerpos existiesen en cantidad notable en el agua ensayada, habría que determinar cuantitativamente el primero, deduciendo su parte de acción del resultado final, y que expulsar por ebullición del agua el segundo, teniendo cuidado de reponer el volumen evaporado con agua destilada.

4ª En general, todo ensaye por el permanganato, debe hacerse en iguales condiciones de temperatura, tiempo de ebullición y concentración de líquido, sin lo cual los resultados no pueden ser comparables.

5ª Cada ensaye debe ser precedido de verificación de las disoluciones y, siempre que esto sea posible, acompañado de un ensaye en blanco con igual cantidad de agua destilada.

6ª La cual, por último, debe cumplir con todos los requisitos indicados en el procedimiento del amoníaco; sino que, en este caso, en vez de la prueba del agua destilada, por el reactivo de Nessler, se recurre á la del permanganato de potasio: 1000 cc. del agua que se destina á las disoluciones diversas, no debe consumir arriba de 0·15 miligramo de oxígeno.

I. MÉTODO.—PERMANGANATO ALCALINO Y SULFATO FERROSO.

Disoluciones y útiles empleados.—El método descrito á continuación, denominado de la "combustión hú-

meda" por Wanklyn, permite según su autor la oxidación completa ó casi completa de los cuerpos orgánicos del agua por medio del permanganato de potasio. Prevendremos que la cantidad de 1 litro de agua para cada ensaye nos parece excesiva, y que el dicho método puede reducirse á las mismas proporciones que los dos descritos más adelante, sin que los resultados sufran alteración digna de tomarse en cuenta.

Utiles necesarios.

1. *Una retorta ó matraz* de vidrio, de un litro de capacidad. Puede servir al efecto el mismo recipiente usado en el método del amoníaco.
2. *Una medida ó pipeta* de 5 cc. para la dosis fija de permanganato.
3. *Dos buretas graduadas* en décimos de cc., para las disoluciones de fierro y de permanganato respectivamente, montadas como las de la fig. 5; la del permanganato requiere un lavado especialísimo antes de recibir el reactivo.

Disoluciones.

1. *Disolución de permanganato.*

Permanganato de potasio puro	3·953 gramos.
Agua destilada, hasta completar	1000 cc.

Cada 1 cc. de esta disolución encierra 1 miligramo de oxígeno activo, y es capaz de oxidar 1 cc. de la siguiente disolución de sulfato ferroso, en presencia de un exceso de ácido sulfúrico. [Sobre la verificación ó deducción de los datos numéricos concernientes á las disoluciones mangánica y ferrosa, véanse las notas de más adelante.]

2. *Disolución ferrosa.*

Sulfato ferroso, puro . .	34·75 gramos.*
Agua destilada . . .	1000 cc.

Cada 1 cc. de esta disolución ferrosa debe absorber 1 miligramo de oxígeno, esto es, descolorar completamente 1 cc. de la disolución de permanganato. Pero como está sujeta á alteraciones con el tiempo, conviene mejor determinar al principio de cada ensaye ó serie de ensayes, qué cantidad de dicha disolución es capaz de destruir 1 cc. de la disolución mangánica. A la cantidad resultante, espresada en centímetros cúbicos llamaremos "una medida" de fierro, por lo que "tantas medidas" de fierro gastadas en el ensaye corresponderán á otros tantos miligramos de oxígeno absorbido.

Más bién: como en el procedimiento actual la dosis de disolución ferrosa de *fuerza normal* es invariablemente 5 cc., lo que habrá que hacer en caso de alteración de la fuerza y de que haya inconveniente ó tropiezo para una rectificación inmediata, será simplemente averiguar cuántos cc. de fierro corresponden á 5 cc. de permanganato.

3. *Disolución alcalina.*

Potasa cáustica . . .	1 parte.
Agua destilada . . .	4 partes.

4. *Disolución de ácido sulfúrico.*

Acido sulfúrico puro .	1 parte	en volumen.
Agua destilada . .	3 partes	

Todas las disoluciones anteriores se conservan en buen estado por mucho tiempo; pero como no hay

* O en su lugar 49 gramos de sulfato doble de fierro y amoníaco.

plena seguridad de que tal suceda con la de fierro, preciso es proceder como queda dicho. Recomendamos para la disolución del permanganato potásico el mismo frasco representado por la Fig 13. De este recipiente se vacia á la bureta cada vez la cantidad de disolución que se estime necesaria.

Marcha de la operación.—Cárgase la retorta, ó el recipiente que se emplee, con 1000 cc. del agua que se va á ensayar, agregando en seguida y antes de empezar á calentar ; primero, 5 cc. de la disolución de potasa cáustica, y después 5 cc. exactamente medidos de la disolución de permanganato. Hecho lo cual se enciende el quemador de Bunsen y se destilan ó evaporan como 900 cc. de los 1000 y tantos, que hay en la retorta. Dura esto poco más de una hora de tiempo, con un foco calorífico de mediana intensidad.

Concluida la destilación se atiende á si el líquido remanente conserva un color rosado, signo de que no todo el oxígeno disponible del permanganato, ó sean 5 miligramos, ha sido absorbido por la sustancia orgánica del agua. (Caso que la cantidad de esta sustancia sea excesiva, antes de concluida la evaporación de los 900 cc., habrá desaparecido todo el permanganato, por lo cual si se produce este fenómeno, necesario es agregar otros 5 cc. del líquido oxidante, y referir el cálculo final á 10 cc. Si este agregado fuese aún insuficiente, quiere decir que el agua necesita dilución con agua destilada antes de ensayarla.)

Al llegar á este punto, se vierten poco á poco en la retorta ó matraz, agitando al mismo tiempo el contenido, 10 cc. del ácido sulfúrico, y sobre lo anterior 5 cc. de la disolución ferrosa, ó su equivalente, en caso que no tenga la fuerza debida. Descolórase el líquido

completamente en unos cuantos segundos, y no falta sino agregarle gota á gota, por medio de la bureta sacada de su soporte y sostenida á mano, la cantidad de permanganato estrictamente necesaria para que el líquido descolorado reasuma el tinte rosado. Dase por terminada la reacción en el instante mismo que la última gota produce coloración persistente. Hay que fijarse bien en este momento, pues, de lo contrario, pasados algunos minutos remanece la descoloración, como si aún faltase agregar licor oxidante: débese probablemente el fenómeno á la formación, á expensas del pequeño exceso de permanganato presente, de ácido férrico que se precipita.*

Los n centímetros cúbicos de disolución mangánica gastados en lo anterior, representa el número de miligramos de oxígeno consumido por la materia orgánica del litro de agua ensayada.

En efecto, el gasto total de permanganato ha sido de $(5+n)$ CC. de los cuales 5 CC. corresponden á la acción de la dosis de fierro empleada; luego, la diferencia, ó sean n CC., son los destruidos por la sustancia orgánica.

EJEMPLOS.

1. La misma agua de El Salto (Enero, 1887) que nos ha servido de comparación en los ejemplos anteriores, sometida al ensaye de la "combustión húmeda" dió el siguiente resultado:

Total cantidad de permanganato usada . .	5·38 CC.
Corresponden á las 5 medidas de disolución ferrosa	5· „
Permanganato destruido por la sustancia orgánica	·38 CC.

Luego, 1 litro de dicha agua absorbía ·38 miligramo de oxígeno.

2. La misma agua, en Diciembre de 1887:

* WANKLYN. *Loc. cit.*, pág. 57.

Permanganato usado	. . . .	7·50 cc.
Corresponden al fierro.	. . . . . .	5· „
Id. á la materia orgánica	. . .	2·50 cc.

O sean 2·50 miligramos por litro.

8. Agua potable de Santiago en esta última fecha:

Permanganato usado	. . . .	12· cc.
Corresponden al fierro	. . . . . .	5· „
Id. á la materia orgánica	. . .	7· cc.

Lo que equivale á 7 miligramos de oxígeno por litro.

Notas.—1. Para determinar la cantidad de permanganato de potasio que entra en un litro del reactivo, se tiene en vista lo siguiente:

Cada molécula de $K_2Mn_2O_8$ de la disolución acuosa, en contacto con cuerpo oxidable, puede ceder como máximum 5 átomos de O, quedando reducida á elementos más fijos que encierran el resto del oxígeno total. Compórtase de igual modo en presencia de un ácido:

(1) $K_2Mn_2O_8 + H_2O = 2KHO + 2MnO + 5O$.

(2) $K_2Mn_2O_8 + 3H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 3H_2O + 5O$.

(3) $K_2Mn_2O_8 + 8H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 8H_2O + (5SO_3 + 5O)$.

Ahora bien: $5SO_3 + 5O = 5SO_4$ es precisamente lo que se necesita para convertir 10 moléculas de sulfato ferroso en 5 de sulfato férrico: $10FeSO_4 + 5SO_4 = 5Fe_2(SO_4)_3$, con lo que podemos formar la ecuación final que representa la reacción en que se basa el método:

(4) $K_2Mn_2O_8 + 8H_2SO_4 + 10FeSO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 8H_2O + 5Fe_2(SO_4)_3$.

El peso molecular de $K_2Mn_2O_8$ es $78{\cdot}3+110+128=$ 316·3; pero como de las 128 partes correspondientes á O_8 hay sólo 80 de oxígeno activo (O_5), según lo demostrado, resulta entonces la proporción

$$\frac{316{\cdot}3}{80}=\frac{x}{1000};\ x=3954.$$

Es decir que si 316·3 miligramos de permanganato contienen 80 miligramos de oxígeno disponible, 3954 contendrán los mil de oxígeno que se requieren para los 1000 cc. de disolución. La disolución normal necesitará entonces 31·63 gramos de permanganato por litro, y cada 1 cc. de ella encerrará 8 miligramos de oxigeno—Esto en teoría, es decir, si el permanganato fuera químicamente puro. En la práctica hay que tomar mayor cantidad de dicha sal.

2. He aquí el procedimiento para verificar y corregir la fuerza de la disolución mangánica:

Tómense 703 miligramos de alambre finísimo de hierro (99·6%) que equivalen á 700 miligramos de Fe, y disuélvanse al calor y con todas las precauciones del caso, en 25 cc. de disolución al 20% de ácido sulfúrico puro. Agréguese agua destilada hasta formar 100 cc., cada uno de los cuales encerrará, por consiguiente, 7 miligramos de Fe y será capaz de descolorar 1 cc. de la disolución de permanganato siempre que ésta sea de la fuerza requerida. En efecto, de la ecuación (4) de la nota precedente resulta que:

10 Fe reaccionan con $K_2Mn_2O_8$ y absorben 5O, esto es, que 560 partes de fierro corresponden á 80 de oxígeno, y que 7 corresponderán á 1.

Luego, en cada 1 cc. de disolución ferrosa deben haber

7 miligramos de fierro, cantidad que corresponde á 34·75 miligramos de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, ó á 49 miligramos de $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$, según es fácil verificar.

3. Si la disolución de permanganato no tiene la fuerza debida resultará que n cc. en vez de 1 cc. son necesarios para neutralizar exactamente 1 cc. de la anterior de hierro recién preparada; de suerte que para que tenga la concentración que llamaremos normal, habrá que agregarle ó que quitarle fuerza equivalente á x gramos de permanganato por litro:

$$x = 3^{gr}954 - \frac{3^{gr}954}{n}.$$

EJEMPLOS.

1º El término medio de varias determinaciones hechas en proporciones diversas da para n un valor de 1·12 cc.

Tenemos entonces que la cantidad de permanganato que agregar á la disolución sera $3^{gr}954 - \frac{3^{gr}954}{1 \cdot 12} = 0^{gr}423$ por litro.

2º Hácese más fuerte de lo necesario la disolución á fin de extenderla después con agua destilada, y n resulta, *v. gr.* = 0·8 cc.

Entonces $x = 3^{gr}954 - \frac{3^{gr}954}{0 \cdot 8} = -0^{gr}9885$.

Quiere esto decir que debe rebajarse el exceso de fuerza correspondiente á $0^{gr}9885$ de permanganato, agregando $1000 : \frac{3 \cdot 954}{0 \cdot 9885} = 251$ cc. de agua destilada por cada 1000 cc. de la disolución que se trata de rectificar.

Esta manera de graduar la intensidad de la disolución mangánica nos parece más conveniente que la

anterior, es decir preferimos rectificar la disolución por exceso.

II. MÉTODO.—PERMANGANATO ALCALINO Y ÁCIDO OXÁLICO.

Disoluciones y útiles requeridos.—El método descrito á continuación es, con algunas variantes de detalle, el conocido con el nombre de Schulze-Trommsdorff. Como en el anterior, empléase en este método el permanganato de potasio en disolución alcalinizada, pero en vez del sulfato ferroso como reductor, es el ácido óxalico el empleado.

Los útiles requeridos son los siguientes:—

Un pequeño matraz como de 250 cc.
Una bureta con llave de vidrio, graduada en $\frac{1}{10}$ de cc.
Un baño de maría.

Las disoluciones:—

1. *Disolución alcalina:*

Soda caústica pura . . .	1 parte.
Agua destilada . . .	5 partes.

ó bien:

Bicarbonato sódico puro . .	1 parte.
Agua destilada . . .	9 partes.

2. *Disolución de ácido sulfúrico:*

Acido sulfúrico puro .	1 parte	en volumen.
Agua destilada . .	3 partes	

3. *Disolución de ácido oxálico*, en la proporción:

Acido oxálico puro .	787·5 miligramos.
Agua destilada .	1000 cc.

Cada 1 cc. de esta disolución descolora 1 cc. de la de permanganato dada á continuación, esto es, absorbe 0·1 miligramo de oxígeno (*Véase* Nota 1). Según las indicaciones de Fresenius, prepárase el ácido oxálico muy puro, para este objeto, cristalizándolo por enfriamiento de su disolución, en pequeños cristales que se secan al aire. Mejor es, aún, y más rápido secarlo en el vacío, en una pequeña cápsula de vidrio ó de porcelana.

4. *Disolución mangánica*, en la proporción:

Permanganato de potasio, puro	395·4 miligramos.
Agua destilada	1000 cc.

Cada 1 cc. de esta disolución contiene 0·1 miligramo de oxígeno activo (*Véase* Nota 1 del método anterior).

Detalles de la operación.—Viértense en el matraz 100 cc. de la muestra de agua y 10 cc. de la disolución mangánica, y se alcaliniza esta mezcla con 1 cc. de la lejía de soda ó bien con 3 cc. de bicarbonato.

Se hace hervir todo durante diez minutos y en baño de maría (invariablemente en cada ensaye, á fin de asegurar condiciones iguales de tiempo y de temperatura), y cuando la temperatura haya bajado á 60° ó 50°, agréganse al líquido 5 cc. del ácido sulfúrico y 10 cc., del ácido oxálico.

Antes de esta doble agregación el líquido mantiene su color vinoso, aunque turbio, debido lo primero á la presencia de permanganato no descompuesto por la materia orgánica, y lo último á formación de óxido mangánico durante la ebullición; después, tórnase claro y transparente por la desaparición de esos compuestos, y encierra sulfato de manganeso, sulfato de

potasio y una parte de los 10 cc. de ácido oxálico vertidos.

Se neutraliza este exceso de ácido agregando gota á gota, hasta obtener coloración rosada permanente, licor de permanganato de la bureta graduada: *los n* cc. *empleados en esta reacción, representan el número de décimos de miligramo de oxígeno absorbidos por la materia orgánica de los* 100 cc. *de agua ensayada.*

Efectivamente, el gasto total de permanganato en toda la operación ha sido de (10+*n*) cc. de los cuales 10 cc. han sido descolorados por los 10 cc. de ácido oxálico; luego el resto, ó sean los *n* cc. agregados al último son los destruidos por la sustancia orgánica.

EJEMPLO.

100 cc. de agua de la Quebrada Verde (Valparaíso) sometidos al ensaye anterior dieron el siguiente resultado:

Total cantidad de permanganato empleada . .	15·5 cc.
Corresponden á los 10 cc. de ácido oxálico . .	10 „
Permanganato destruido por la sustancia orgánica .	5·5 cc.

Por consiguiente 100 cc. de dicha agua absorbían 0·55 miligramo de oxígeno, y un litro entonces 5·5 miligramos.

III. MÉTODO.—PERMANGANATO ÁCIDO Y ÁCIDO OXÁLICO.

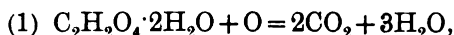
Sirven para este método los mismos materiales del anterior, excepto la soda, y la marcha de la operación es la misma. En vez de la lejía alcalina se agregan al principio á los 100 cc. de agua, junto con los 10 cc. de permanganato 5 cc. de la disolución de ácido sulfúrico.

Deben observarse con todo rigor igualdad de temperatura y de tiempo para cada ensaye. La acción no puede ser muy prolongada, porque el permanganato de potasio en un licor ácido se descompone poco á poco

bajo la influencia del calor, aún en ausencia de toda materia orgánica.

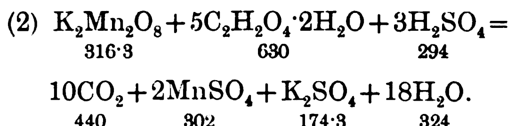
El partido que se puede sacar de este método consiste en que la disolución mangánica ácida ataca distinta naturaleza de materia orgánica que la disolución mangánica alcalinizada. Combinando entonces ambos métodos en uno solo, es decir haciendo siempre dos ensayes simultáneos con iguales cantidades de una misma agua, tendríase algún indicio sobre el posible carácter de la materia orgánica del agua, dato, lo repetimos, de mucho mayor valor higiénico, que el referente á la sola estimación cuantitativa de esa materia.

Notas.—1. Las mismas consideraciones que sirvieron para determinar las fuerzas respectivas de las disoluciones en el caso de emplearse el sulfato de fierro como reductor, sirven en el método por el ácido oxálico ; sólo que el principio de este método está fundado en la oxidación de dicho ácido, de acuerdo con la ecuación



$$(1)\quad C_2H_2O_4{\cdot}2H_2O + O = 2CO_2 + 3H_2O,$$

y que la reacción puede representarse así :



$$(2)\quad \underset{316{\cdot}3}{K_2Mn_2O_8} + \underset{630}{5C_2H_2O_4{\cdot}2H_2O} + \underset{294}{3H_2SO_4} =$$

$$\underset{440}{10CO_2} + \underset{302}{2MnSO_4} + \underset{174{\cdot}3}{K_2SO_4} + \underset{324}{18H_2O}.$$

Es decir que los 5 átomos disponibles de la molécula de permanganato reaccionan con 5 moléculas de ácido oxálico, de donde las proporciones en miligramos :

80 : 630 : : 100 : x = 787·5 miligramos de ácido oxálico,

y 80 : 316,3 : : 100 : x = 395·37 miligramos de permanganato,

que son los valores teóricos indicados al principio para las disoluciones respectivas.

2. Para verificar la fuerza de la disolución mangánica, preciso es tomar una disolución recién preparada de la correspondiente de ácido oxálico,* y ver si el permanganato neutraliza á éste centímetro á centímetro. Si el permanganato resulta más fuerte ó más débil de lo debido, procederáse entonces á rectificarlo de un modo enteramente análogo al indicado en la Nota 3 del método anterior, á menos que se prefiera emplear la disolución tal cual, y hacer después en el cálculo las correcciones numéricas necesarias.

* Las disoluciones flojas de ácido oxálico constituyen medio apropiado de cultivo para ciertos microorganismos, de manera que en poco tiempo fórmanse en la masa liquida colonias visibles, y parte del ácido es destruido.

TERCERA PARTE.

EXAMEN BACTERIOLÓGICO.

CAPÍTULO X.

NOCIONES GENERALES SOBRE LAS BACTERIAS Y SUS RELACIONES CON LA INFECCIÓN DE LAS AGUAS.

En el estudio propiamente químico de las aguas suele bastar la habilidad operatoria del analizador; en el estudio bacteriológico necesario es, además, un conocimiento sintético de las nociones fundamentales que sirven de base á la investigación, y una particular rectitud de juicio para no extraviarse ó experimentar perplejidad en una vía de estudio apenas abierta todavía.

La razón es obvia: en el primer caso no hay que traer al espíritu complicada serie de relaciones para aceptar que tales ó cuales compuestos en las aguas puedan ser útiles, nocivos ó indiferentes; mientras que en el segundo, desde la existencia misma de los infinitamente pequeños hasta la acción tan profunda que pueden ejercer sobre el organismo humano, hay un encadenamiento de fenómenos y de circunstancias tales que, examinados con sano criterio harán ver más claramente la importancia del estudio bacteriológico de las aguas, y que desconocidos darán á este un caracter rutinario poco en harmonía con las exigencias científicas actuales.

En suma, necesítase emprender la investigación con el convencimiento del papel íntimo desempeñado en general por dichos seres en las condiciones de existencia de los organismos superiores, y especialmente del hombre. El asunto es vasto, y la literatura de esta rama de la ciencia contemporánea es ya harto considerable.

En obsequio de la mayoría de las personas á que está destinado especialmente este libro, limitámonos siquiera á consignar en seguida breve sinopsis de los conocimientos actuales sobre el asunto.

Entre los trabajos clásicos referentes á lo mismo recomendamos los de Duclaux, y en particular su conocida obra *Le microbe et la maladie.* (G. Masson, Paris, 1886.)

Como tratados generales que es necesario consultar para infinidad de detalles que no tendrían cabida en libro como el presente vienen en primera línea:

FLÜGGE: *Mikro-Organismen*, etc., Leipzig, 1886. Traducción francesa: *Les Microorganismes*, etc., 2ª edición, Bruselas, 1887.

HUEPPE: *Die Methoden der Bakterienforschung*, 4ª edición, Wisbaden, 1889. Edición francesa: Hueppe-Van Ermengem, *Manuel technique de microbiologie*, París, 1887.

FRAENKEL: *Grundriss der Bakterienkunde*, 2ª edición, Berlín, 1887.

CROOKSHANK: *Manual of Bacteriology*, 2ª edición, Londres, 1887.

Entre las publicaciones periódicas relacionadas con la bacteriología y que traen frecuentes estudios sobre las aguas hay que citar:

Zeitschrift für Hygiene (Leipzig), dirigida por KOCH y FLÜGGE.

Archiv für Hygiene (Münich), dirigida por FORSTER, HOFMANN y PETTENKOFER.

Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde (Yena), dirigida por UHLWORM, de Cassel.

Annales de l'Institut Pasteur (París), dirigida por DUCLAUX.

Annales de Micrographie (París), dirigida por MIQUEL, sabio cuyos interesantísimos trabajos sobre las aguas de París se publican regularmente en el *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris.*

Naturaleza de las bacterias.—Es curioso que la noción general más rapida y clara acerca de la naturaleza de los organismos infinitesimales se obtenga reflexionando por un instante sobre la composición del mundo orgánico entero. En efecto, las ciencias biológicas modernas han demostrado que aquel deriva en último análisis su estructura de un elemento morfológico extremadamente simple y uniforme como constitución, extremadamente vario y complejo como centro de las actividades ó energías que se confunden con el orígen

mismo de la vida. Este elemento, que es *la célula*, compónese de una cubierta, de un contenido y de un núcleo, derivado este último de una combinación aún mucho más simple y primordial: el protoplasma ó materia plasmática. Toda la vitalidad de la célula y su poder de reproducción residen en el protoplasma, y aunque se ignora y se ignorará siempre cuál es la naturaleza de la fuerza impulsiva inicial que en él provoca la asimilación de principios nutricios, y en suma los fenómenos de la vida, sábese algo en cambio acerca del mecanismo de estas funciones, según trataremos de exponerlo más adelante.

En los organismos superiores, en el hombre, por ejemplo, los componentes anatómicos de la individualidad no son principalmente sino agrupaciones de células y sus derivados, con la sangre como principio nutricio; el todo con su resultante de acción propia, y en el cual cada célula es una unidad viviente. En general, " un ser cualquiera, dice Duclaux, se compone de millones y millones de estas unidades, y la vida de conjunto resulta de la superposición y de la armonía de estas vidas elementales ".*

Descendiendo en la escala de la existencia, sea en el reino animal, sea en el vegetal, vemos que por gradaciones infinitas las organizaciones se simplifican y los grandores se desvanecen; que las agrupaciones de los elementos morfológicos descritos y que entran en la formación de cada ser van decreciendo en número y en variedad de manifestaciones vitales; hasta que en último término, dentro de los límites de la visibilidad, en el mundo vegetal, llegamos á esos organismos unicelulares de pequeñez inenarrable, de vida autónoma

* *Le Microbe et la Maladie*, pág. 117.

y de prodigiosa facultad de reproducción, y cuya profunda y general influencia en la economía de la naturaleza no ha venido á ser conocida en toda su extensión sino en los días que corren. Estos organismos inferiores que la ciencia contemporánea ha bautizado con los nombres de *microbios* ó de *microorganismos*, logrando aprisionarlos como en redes sutilísimas para el estudio de sus actividades específicas, fueron antes, sin embargo, considerados sin la menor importancia cuando llegó á observárseles; ó bien, existimados como entidades reales pero impalpables cuando la persistencia y naturaleza de ciertos fenómenos no dejaban casi lugar á dudas que se trataba de la acción de algun principio ó elemento organizado.*

La síntesis de los actuales conocimientos sobre esta materia se resume en esta doble noción aparentemente contradictoria: *la vida animal y la vegetal llegarían á ser imposibles sin la intervención constante y universal de la actividad microbiana; tanto la una como la otra suelen sufrir menoscabo ó aniquilamiento bajo la acción invasora de ciertas especies de microbios.*

Sólo este segundo punto se roza directa ó indirectamente con el objeto de estas líneas. Para comprender cómo estos infinitamente pequeños, que existen hasta en el agua que bebemos, pueden causar detrimento en los organismos superiores, bastará abarcar de una ojeada el conjunto de sus caracteres biológicos y morfológicos, tomando especialmente en cuenta aquel grupo de microorganismos más importante desde el

* Véanse, por ejemplo, á este último propósito, las observaciones de Henle en sus obras *Pathogischen Untersuchungen* (1840), y *Handbuch der rationellen Pathologie* (1853); observaciones citadas por Flügge en su libro *Les Microorganismes* (2ª edición francesa, pp. 22-24).

punto de vista de la etiología de las enfermedades infecciosas: las *bacterias* ó *esquizomicetos*.

Son las bacterias pequeñísimas células vegetales (globulares, ovoides ó filiformes) desprovistas de clorofilo, en lo que se diferencian de las células vegetales superiores, y que se multiplican principalmente por división (de aquí su nombre de esquizomicetos). Constan esencialmente de cubierta y de protoplasma, y en los medios fluidos y en plenas condiciones de vitalidad preséntanse en el campo del microscopio, ora en completo reposo, ora animados de movimientos oscilatorios, giratorios y de traslación que llegan á ser vivísimos, debidos, como se ha logrado observar en algunas especies, á un tenuísimo apéndice ó cauda vibratoria. La cubierta celular consta de una materia como la *celulosa*, y el contenido plasmático de una sustancia nitrogenada que Nencki, á quien se deben principalmente estas investigaciones, designa bajo el nombre de *micoproteína*.

En este contenido y su envoltura, más que en todas las variaciones de forma, hay que buscar el carácter diferencial de las especies bacterianas. A pesar de la aparente uniformidad de su composición pueden distinguirse en más de un caso por ciertas reacciones particulares; pero en donde exhibe toda la variable naturaleza de sus cualidades es en el proceso de la nutrición, y en los fenómenos fisiológicos tan diversos que acompañan á ésta cuando tiene su asiento en la economía animal. Una muestra de lo primero nos la suministra el bacilo de la tuberculosis cuyo protoplasma una vez impregnado de ciertas tinturas de anilina resiste á la acción descolorante del ácido nítrico, gracias á la impermeabilidad particular de su envoltura, en

tanto que se destiñen bajo la misma influencia todos los microorganismos que suelen acompañar á dicho germen ; y un ejemplo notable de lo segundo vemos en el bacilo tífico, tan semejante en caracteres morfológicos y reacciones de cultivo á varios otros que pueden existir en el canal intestinal del hombre y que sin embargo no dan origen, como aquel á una de las mas temibles entre las infecciones á que está sujeto el organismo humano.

Resuélvese la vida de las bacterias, como la de todo organismo viviente, en las funciones de *nutrición* y de *reproducción* ; y los elementos primordiales que entran en juego como base material de estos fenómenos son : el *oxígeno*, tomado del aire ó de la sustancia nutricia ; el *carbono*, tomado de los productos hidrocarbonados de esta última ; el *nitrógeno*, tomado de los principios albuminóideos, ó aún de sales amoniacales ; y, por fin, *sustancias minerales* en mínima cantidad, y que generalmente existen en la indicada sustancia nutricia. Todos estos elementos entran de algún modo ú otro en la envoltura celular y su contenido.

Ahora, en cuanto al mecanismo de estas funciones he aquí lo que se sabe : 1º *descomposición extracelular*, á influencias sin duda del protoplasma viviente, del medio nutritivo que rodea la célula ; 2º *asimilación* de ciertos productos resultantes del anterior fenómeno, asimilación que se verifica por endósmosis á través de la membrana celular ; 3º *descomposición intracelular* de los productos asimilados, y *combustión* de los productos oxidables que resultan de la misma ; 4º *regeneración* de la célula, y *formación* de nuevos elementos celulares.

Todo lo cual representa un trabajo perfectamente

definido y exige por lo tanto un consumo proporcional de *fuerza* ó *energía*, sea que nos la figuremos en la forma de calor sensible, sea en cualquiera otra. Como en la producción de la fuerza total requerida el papel del oxígeno es el de más grande importancia, conviene á nuestro fin precisar las nociones ad quiridas sobre la varia actitud de los microorganismos con referencia á sus necesidades de oxígeno, actitud que ha conducido á su clasificación en *aerobios* y *anaerobios*.

Los microorganismos que á semejanza de las plantas superiores requieren forzosamente respirar oxígeno de una atmósfera oxigenada, se llaman *aerobios obligados*, por contraposición á los *anaerobios obligados* que necesitan derivar su oxígeno de los compuestos del nutrimento, y que en presencia de aquel gas en el estado libre, perecen ó cesan de multiplicarse. Entre ambos extremos hay ciertas especies de microbios cuyas condiciones de existencia son mucho más favorables cuando existe amplia prevención de oxígeno gaseoso, pero que en ausencia de éste pueden aún subsistir como verdaderos anaerobios: se les denomina *anaerobios facultativos.* Los gérmenes del cólera asiático y los de la fiebre tifoidea se encuentran en este número.

En la *vida aerobia* la presencia constante de un exceso de oxígeno libre asegura una oxidación mas íntima, una combustión más completa de los productos de la asimilación, de tal suerte que con el mínimun de sustancia se subviene á la producción de la energía indispensable. En la *vida anaerobia*, la fuerza necesaria no puede resultar sino de las combinaciones exotérmicas existentes en aquella sustancia, las cuales al ser parcialmente disociadas ó reducidas durante el

proceso de la nutrición ponen en libertad cierta suma de su energía intrínseca. Siendo muy superficial la reducción, es claro que para producir una fuerza equivalente á la del primer caso, menester será que entre en juego ó sufra alteración cantidad mucho mayor de la sustancia nutricia extracelular: en ambas circunstancias el calor final necesario es función de la masa y de la intensidad ó grado de la acción.

De cualquier manera que sea, para una ínfima proporción de materiales nutritivos realmente asimilados y que entran en la formación de nuevos elementos celulares, hay una proporción exhorbitante de materiales alterados, nada más que para la producción de la fuerza necesaria para ese trabajo: la consideración de este conjunto de fenómenos, es decir el proceso de la nutrición celular con alteración concomitante más ó menos profunda, más ó menos variada de un exceso notable de materiales nutritivos, conduce al concepto fundamental de la *fermentación.**

El punto de mayor importancia relativo á los productos de la nutrición y de la fermentación propiamente dicha es el número y la naturaleza variadísima de ellos; lo cual en cada circunstancia depende naturalmente no sólo de la composición del medio nutritivo sino también de la actividad específica del microorganismo. El número de condiciones diversas capaces de hacer variar los resultados en el sentido indicado no tiene límite. Porque, si bien es verdad que existe cierto número de fermentaciones específicas bien definidas, y

* Para no complicar sin objeto esta sencilla exposición, no entramos á considerar los *fermentos químicos* (parcialmente producidos por los mismos *fermentos organizados* que nos ocupan) en la parte activa que les corresponde en la fermentación.

representables por ecuaciones químicas, *v. gr.* como la fermentación alcohólica del azúcar, la fermentación láctica, etc., en cambio, por la razón antedicha, y á más siendo tan complejas y diversas las sustancias fermentables, en la gran mayoría de los casos es sencillamente imposible representar el fenómeno por una ecuación. Es más: en un mismo medio, á una fermentación dada pueden seguir otra y otra, en virtud de que si existen en él varias especies bacterianas, supongamos, irán ellas entrando sucesivamente en actividad, y á medida que la composición del nutrimento vaya experimentando alteraciones que lo hagan más apto para la multiplicación de una especie con preferencia á otra.

Casos existen en que los productos finales de un cultivo puro de alguna especie bacteriana son contrarios á las condiciones de subsistencia de las mismas células que los originaron, y así éstas cesan de reproducirse y aún desaparecen, para dar lugar á la multiplicación de otras de distinta especie; y otros casos hay en que dichos productos son más bien favorables en análogas circunstancias, como p. ej. parece suceder con los espirilos del cólera asiático.

La fermentación de las sustancias proteínicas ó albuminóideas, entre infinidad de otros compuestos, da origen á bases nitrogenadas más ó menos tóxicas, de naturaleza análoga á los alcaloides vegetales, y que por haber sido primeramente observados en los cadáveres, recién entrados en descomposición, recibieron el nombre de *tomaínas* (*πτῶμα, cadáver*). Lo más singular es que las mismas células del organismo en plena vida, dan origen á bases semejantes, y por un procedimiento también semejante al descrito. Gautier

ha designado estos alcaloides fisiológicos con el nombre de *leucomaínas* (de *λεύχωμα*, *clara de huevo*). Las cuales, si no son eliminadas por las secreciones, ó no transformadas ó destruidas por la oxidación, pueden ser causa de procesos mórbidos, verdaderos envenenamientos del carácter más variado como gravedad, como rapidez de acción, y como asiento y manifestación del mal.*

La composición de unos y otros de estos principios alcalóideos, sus fórmulas de estructura son en extremo parecidas, como que en suma, para una misma serie, las diferencias pueden reducirse á moléculas de H_2O; sin embargo, desde el punto de vista fisiológico sus cualidades varían de tal manera que mientras unas bases son relativamente inocuas, otras son tóxicos poderosos para el organismo animal. Por ejemplo:

La Colina, $C_5H_{15}NO^2$ tóxico débil.
La Nevrina, $C_5H_{13}NO$ tóxico poderoso.

Brieger † dice que la presencia de esta última tomaína en los tejidos putrefactos no puede provenir sino de la sustracción de una molécula de agua de la *Colina*, á influencias de fermentación bacteriana.

Fácil es concebir, en vista de los antecedentes que hemos venido exponiendo, de qué modo la implantación y colonización de ciertas especies de bacterias en el seno del organismo pueden ser causa de los mismos procesos patológicos señalados más arriba. La invasión de una parte cualquiera del cuerpo humano por células parásitas no es un hecho inexplicable, y mucho tiempo

* *Véase*, Gautier; *Les alcaloïdes dérivés des tissus animaux* (*Ptomaïnes et Leucomaïnes*); y Bouchard: *Leçons sur les auto-intoxications dans les maladies.*

† *Ueber Ptomaïne*, ed. francesa, p. 58.

ha que dejó de ser una hipótesis: en la sangre, en los tejidos, dondequiera, en fin, que uno solo de esos gérmenes encuentre condiciones adecuadas de existencia y pueda disputar el nutrimento á las células del organismo, allí crecerá y se multiplicará dando origen á todos los fenómenos de la nutrición bacteriana, y á los desórdenes consiguientes en las funciones del ser invadido. Pero, como no todas las especies microorgánicas se hallan en este caso, háselas dividido en *patógenas* y en *saprófitas*, designándose con el primer término á aquellas que pueden ser causa de enfermedad en el hombre ó en los animales al invadirlos parasitariamente; y con el segundo á aquellas especies que viven de la materia inerte, sea en el organismo sea en el mundo externo. Demás está decir que semejante distinción es puramente relativa y que, variando las condiciones, puede variar el carácter específico de los gérmenes en sus relaciones con los seres superiores.

He aquí como todos estos hechos paulatinamente puestos en evidencia en los últimos treinta años han venido á esclarecer los antiguos y arraigados conceptos del contagio y de los miasmas, y á descorrer el velo que ocultaba el mecanismo de las enfermedades infecciosas, junto con desvanecer otras erróneas teorías acerca del carácter y génesis de los fermentos organizados. Por otra parte, cada nueva observación, cada nuevo descubrimiento en el estudio de estas entidades impalpables, y de sus relaciones con el resto del mundo orgánico han ido simplificando la concepción de los fenómenos más hetereogéneos é inexplicables en apariencia, á la vez que poniéndolos de acuerdo con otros descubrimientos y observaciones de las ciencias biológicas y de la ciencia

en general. Hase llegado, de este modo, á reducir casi á fórmula única el conjunto de fenómenos que constituyen la vida universal en sus manifestaciones materiales; así como en campo más vasto, por la experimentación y por el cálculo, habíase llegado ya á demostrar la unidad de la fuerza, y llegaráse acaso algún día á la de la materia. La teoría microbiana de la infección reposa, entonces, no solamente sobre resultados constantes de observación experimental, sino que, como concepción científica, lejos de tener sus fundamentos en el terreno de la simple especulación, tiénelos en leyes y principios que son comunes á todas las formas de la actividad del mundo. Y si antes pudo parecer sorprendente é increíble la influencia desmesuradamente grande de los "infinitamente pequeños," hoy día, en presencia de demostraciones rigurosas, sorprendente sería ante el criterio de la ciencia que tal no sucediese. La existencia ruda y vigorosa que enferma, sucumbe y acaba por convertirse en polvo, nada más que como resultado del impulso inicial de una célula parásita, no constituye fenómeno menos vulgar ó más maravilloso, que el montón de combustible que al contacto de una chispa cualquiera, arde y se reduce á cenizas.

La conclusión de cuanto se ha expuesto, y á la cual sólo queríamos arribar por un encadenamiento lógico, es que la investigación de los gérmenes bacterianos en las aguas se sobrepone á toda otra investigación concerniente á la naturaleza higiénica de ese elemento de primordial necesidad. Imposible sería prescindir de ella, una vez rigurosamente probado que ciertas especies de microbios al desarrollarse en el individuo pueden engendrar en él afecciones específicas de una gravedad

cualquiera ; y demostrado, además, como lo haremos en seguida, que algunas de esas especies pueden existir y desarrollarse en el agua que bebemos.

Papel etiológico del agua potable.—Dijimos en la INTRODUCCIÓN que cuando las nociones claras y precisas sobre el carácter patógeno de ciertos microorganismos no podían ser siquiera sospechadas, es decir en todos los tiempos anteriores á la fundación de la ciencia microbiológica cuyos principales rasgos acabamos de exponer, era tan patente como hoy día sin embargo, la relación inequívoca de causa á efecto entre la condición nociva, pero de naturaleza desconocida de ciertas aguas, y el origen y desarrollo de ciertas afecciones del organismo humano. Contestes han estado los observadores de todas las épocas sobre este punto, si bien á veces las ideas más extravagantes, como, p. ej., la de envenenamiento intencional de las aguas, han reinado y reinan todavía entre las clases ignorantes, acerca del carácter del agente infeccioso.

Para la fiebre tifoidea, para el cólera asiático, y aún para ciertas formas de diarrea, la evidencia material de una relación semejante es cosa que ya no admite discusión : pero sólo para la primera de estas infecciones ha sido hecha en toda su plenitud la prueba científica de que en la mayoría de los casos es originada y propagada por la ingestión de aguas, mal llamadas potables, inficionadas por los gérmenes específicos de dicha fiebre.

Antes que la actual teoría parasitaria fuese establecida sobre sólidos fundamentos, Budd* en Inglaterra había reunido una serie de observaciones tendentes á probar el carácter etiológico del agua, en ciertas circunstancias,

* WILLIAM BUDD. *Typhoid Fever : its nature, mode of spreading, and prevention.* Longmans, Green & Co., Londres, 1873.

con respeto á la producción de la fiebre tifoidea. Pero este observador, que con tanto acierto sostiene en su obra, contra la opinión general entonces dominante, que la infección tífica sólo puede provenir de algún agente específico empéñase, sin embargo, en demostrar que es el aire el principal propagador de dicho agente, relegando á segundo término la importancia del agua en el mismo sentido. "Hasta donde llega mi propia " experiencia (dice en pág. 117) puedo aseverar que las " peores y mas extendidas epidemias de que haya sido " testigo personal, han ocurrido en localidades donde el " agua para la bebida era absolutamente irreprochable."

El error de Budd al creer que en la gran mayoría de las epidemias que describe, no podía ser el agua el propagador del contagio, proviene: 1º de partir del principio de que el análisis químico revelaba siempre un agua orgánicamente pura, siendo así que ya hemos visto y demostrado cúan engañoso puede ser ese dato (Cap. I., párrafo *Nitratos*); 2º de que según sus doctrinas el supuesto germen ó causante de la infección tífica no podía propagarse fuera del organismo; y, 3º que consideraba como condición absoluta de inmunidad la circunstancia de que los depósitos ó fuentes de agua se hallasen lejos de los puntos en que podían arrojarse las excreciones de los enfermos, cuando el hecho es que á causa de la porosidad del suelo, pueden los gérmenes tíficos pasar sin menoscabo alguno de vitalidad á través de considerable espesor de terreno.*

* Sobre este punto están en contradicción los hechos de la vida real con los resultados de experimentos de laboratorio. Comparemos, trayendo primero á cuenta, con referencia á los hechos, el caso célebre de la epidemia de Lausen, descrito en extenso en el "*Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege*," Vol. VI., p. 153, y sucintamente descrito á continuación:—El 7 de agosto de 1872 estalló

Con respecto al asunto general, puede decirse que los conocimientos actuales llevan á conclusión enteramente opuesta. Así, el profesor Brouardel declaraba 14 años

en Lausen, lugarejo del cantón de Basilea, en Suiza, una seria epidemia de fiebre tifoidea, de la que solo escaparon *seis* casas en un total de *noventa*, con la particularidad de que aquellas eran las únicas que no se surtían del agua pública. La cual, por provenir de unas vertientes nacidas en la falda de la montaña de Stockhalden, y llevada al abrigo de todo ensuciamiento á un depósito especial, no podía dar lugar á sospechas de que fuese causante del mal. Sin embargo, habíase descubierto años atrás que dichas vertientes estaban en comunicación subterránea con el arroyo Fürlerthal, del valle situado al otro lado de la montaña, á través de más de un kilómetro de terreno; y averiguóse después que tres semanas antes del comienzo de la epidemia había ocurrido un caso de fiebre en una casa cuyos desperdicios iban á parar al nombrado arroyo, inficionando las aguas de éste, y por consiguiente las de la población de Lausen. En el hoyo en que se perdía el Fürlerthal echáronse, previamente disueltos, 18 quintales de sal, y el agua de Lausen se tornó algo salada. En cambio, reemplazando la sal por harina ni vestigios de ésta aparecieron al otro lado *lo que prueba que el agua sólo pasaba después de experimentar una perfecta filtración natural.* El caso descrito, laboriosamente investigado por el Dr. Hägler de Basilea, probaba sin lugar á dudas que el "veneno de la fiebre" había sido llevado por el agua á la población víctima de la epidemia y, cosa muy digna de notarse, que una filtración tan completa como aquella, en nada alteraba al dicho veneno. Como este caso, ha habido otros que han llevado á la misma conclusión.

Mientras tanto Grancher y Deschamps (*Recherches sur le bacille typhique dans le sol*—"*Arch. de méd. expér. et d'anat. path.*," tomo I., 1889, page 33) enFrancia, llegaron á conclusiones experimentales enteramente diversas, valiéndose al efecto de cilindros de zinc, de $2^{m}\cdot40$ de altura, en el interior de los cuales se había reproducido fielmente cinco capas sucesivas del terreno de Achères, en diferentes condiciones de humedad, de compresión de la tierra, etc. Vertiendo en la parte superior *cultivos puros artificiales* del bacilo de Eberth, y después, y con diversos intervalos, agua esterilizada, en ninguno de los numerosos experimentos pudieron encontrar en el agua de filtración el mencionado germen.

Pero se presenta la siguiente observación sobre el alcance que debe

más tarde, en la sesion de apertura del Congreso de Higiene de Viena (lunes 26 de setiembre de 1887) que tenía entre manos más de 60 relaciones ó informes sobre epidemias atribuidas al agua potable, muchas de ellas sin explicación alguna posible, como no fuese la de aceptar este medio de infección. El agua, concluía el eminente higienista, es 90 veces en 100 el vehículo de los gérmenes de la enfermedad.

Faltan en Chile documentos especiales acerca de la misma materia, pero no es menos demostrativo el hecho que desde que Santiago y Valparaíso fueron dotados de buena agua potable, la fiebre tifoidea ha desaparecido ó llegado á ser casi desconocida como epidemia en ambas ciudades. Antes de la mejora señalada hay que recordar á propósito de esta temible infección principalmente la gran epidemia de 1865, época en que Valparaíso se alimentaba en exclusivo de las escasas aguas de las quebradas y de pozos abiertos en la misma planta de la población, en un terreno poroso, saturado de infiltraciones nocivas;

darse á estos resultados: si la vitalidad ó poder de resistencia á las causas diversas de destrucción en un microbio patógeno es significado de virulencia, y si la virulencia del bacilo de Eberth alcanza su máximum conocido en el organismo humano ¿habría resultado siempre absolutamente limpia de dicho bacilo el agua filtrada, caso de haber echado arriba de los cilindros deyecciones de un dotinentérico en vez de cultivos artificiales?

No hay, pues, pruebas definitivas que devanezcan el temor del paso del bácilo tífico á través de ciertos espesores de terreno. La cuestión tiene su importancia para Valparaíso, por ejemplo, dadas las condiciones de localidad de su principal fuente de agua potable. La hoya del estero de El Salto, y sus alrededores, aumenta día á día en población y alguno llegará acaso, en que el agua de los pozos cavados bajo el lecho arenoso del estero no estén del todo el abrigo de infiltraciones de las letrinas cavadas en la superficie.

entonces más que ahora, puesto que no habían cañerías de desagüe. Valdivia, por el contrario, es la única parte del país en donde haya fiebre tifoidea con carácter epidémico (en el verano): es la única población, también, que bebe agua de río, tomada en la misma parte en que se vacian los desperdicios de las casas y de las fábricas. Con esto tenemos entre nosotros la doble prueba del papel etiológico de ciertas aguas usadas como potable, en el caso de la fiebre tifoidea.

Demostrada en todas partes relación tan estrecha entre la calidad de algunas aguas y la producción y propagación de la enfermedad que nos ocupa, no faltaba sino demostrar en ellas la presencia del germen reconocido como el verdadero causante del mal, precisado en sus caracteres morfológicos por Eberth en 1880, y confirmado en su carácter patógeno por Gaffky en 1884.

Las primeras demostraciones del germen tífico en aguas usadas para la bebida fueron hechas en 1886 por Michael y Moers en Alemania y por Chantemesse y Widal en Francia. Después han confirmado plenamente este descubrimiento, entre otros investigadores, Kowalsky en Viena, Fodor en Budapest y Fol en Ginebra.

Como era de esperarlo, en Valparaíso, endonde desde hace tantos años sólo hay limitados casos de fiebre tifoidea (debidos sin duda alguna á infección extraña al agua) no encontramos en las aguas de su provisión, en una serie de investigaciones llevadas á cabo desde julio á setiembre de 1888, el bacilo característico, no obstante haber echado mano de todos los refinamientos que se recomiendan para esa determinación delicada. Tam-

poco existía, por la misma epoca (pleno invierno) el bacilo tífico en cinco muestras de aguas de Valdivia que nos fueron enviadas, con todas las precauciones de estilo, desde aquella ciudad, por el Dr. Bianchi, coincidiendo este resultado negativo con la ausencia de fiebre tifoidea en aquella localidad, tan severamente tratada, á veces, por la epidemia en los veranos.

La propagación del cólera asiático por las aguas tiene también en su apoyo numerosas observaciones hechas en diversas partes del mundo, así antes como después del establecimiento de las teorías microbianas. Sin hacer referencia á lo observado en aquel sentido en las epidemias europeas, nos bastará recordar lo acaecido en Chile, principalmente en los dos períodos de mayor recrudescencia (veranos de 1887 y 1888) de una plaga que por primera vez se presentaba en el país, con caracteres harto terribles. El gran papel desempeñado en la difusión del morbo por los numerosos canales y acequias que cruzan los campos, es un hecho indiscutible para quienquiera se haya dado el trabajo de seguir atentamente la epidemia. Tan manifiesta era á veces la infección que en un pequeño pueblo vecino á Santiago (creemos que Talagante) amotináronse las gentes contra médicos y ambulantes, acusándolos de envenenadores, al notar que á ojos vistas caían atacados por el mal cuantos bebían el agua cruda de las acequias.

Hay que convenir, sin embargo, en la probabilidad de que el agua corriente, más que como medio apropiado y conservador del carácter morbífico de los gérmenes, propágalos tal vez al servir de véhiculo á la gruesa materia orgánica en suspensión, en cuyos

resquicios imperceptibles pueden desarrollarse y subsistir, á lo menos por cierto tiempo, los gérmenes expelidos del organismo humano, y en el estado de mayor virulencia.

Según datos que debemos á la bondad del Dr. Deformes, uno de los jóvenes médicos que hicieron la doble campaña colérica indicada estudiando atentamente la epidemia, en Santiago la immensa máyoría de los atacados procedía de las suburbios, endonde se bebe el agua del río ó la inmunda de las acequias. En las calles de los Andes y Mapocho, que no tienen agua potable, la mortalidad fué terrible; siendo hecho comprobado que en la calle de Bellavista fué respetada la acera que disponía de aquel elemento para la bebida, en tanto que en la acera opuesta, privados del mismo, fueron atacados por el mal casi todos sus habitantes. Durante la primera epidemia en el departamento de los Andes, el Dr. Deformes pudo comprobar del modo más perentorio el hecho siguiente: en un gran establecimiento de pastos, adoptóse como obligatoria la bebida del agua cocida y ninguno de los trabajadores que permanecían en el establecimiento enfermó; en tanto, los carreteros y capataces ocupados exteriormente en el acarreo de pasto, incitados por los ardores del sol, echábanse á beber agua de las acequias vecinas al camino, y casi todos ellos con extinguir su sed extinguieron también su existencia. En Valparaíso, por último, fueron los cerros, y las calles apartadas, sin agua potable sino de pozo ó de pequeños caudales expuestos á todo linage de contaminación, los lugares de la población que dieron mayor contingente de atacados. Por medio de un interrogatorio minucioso se comprobó siempre como antecedente del mal la

ingestión de un agua impura, á no dudarlo contaminada por los gérmenes colerígenos.

¿Son éstos los bacilos vírgulas de Koch ó bien otros microorganismos que todavía escapan á lo investigación?* La mayoría de los patologistas é higienistas, en vista de las pruebas accumuladas en apoyo de la teoría de Koch, aceptan la relación de causalidad entre los gérmenes mencionados y la producción del cólera asiático; otros, con Pettenkofer á la cabeza, niegan toda relación de esa naturaleza. Esta divergencia de opiniones no altera la importancia del estudio bacteriológico de las aguas con referencia á dichos espirilos, sean colerígenos ó simplemente coleráicos, visto que si es discutible su carácter etiológico, no lo es de modo alguno la circunstancia de que nunca existen en el organismo humano sino en casos genuinos de cólera asiático, ó en las aguas ú otras partes del mundo externo sino en época de epidemia, ó en regiones en que el mal es endémico, como en la India. Luego su presencia es por lo menos anuncio cierto de que el mal existe.

Por lo que toca á otras enfermedades infecciosas, es evidente que la propagación de ellas por las aguas no tiene el mismo alcance ó importancia que en los dos casos señalados. Proviene esto de que los otros gérmenes patógenos para el hombre, conocidos hasta hoy, no encuentran en el agua potable condiciones adecuadas de temperatura ó de nutrición, de suerte que si pueden vivir en ella por un tiempo más ó menos largo, ó no se multiplican, ó sufren atenuación marcada en su virulencia.

* Con respecto á este punto, entre las publicaciones más recientes puede verse: E. KLEIN, *The Bacteria in Asiatic Cholera.* Macmillan & Co., Londres, 1889.

CAPÍTULO XI.

DOBLE OBJETO DEL EXAMEN BACTERIOLÓGICO. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Necesidad del doble examen estadístico y cualitativo de los gérmenes.—El estudio bacteriológico de las aguas no puede limitarse exclusivamente á la busca de los microbios propiamente patógenos, sino que debe extenderse siempre al esclarecimiento de la contaminación bacteriana en general. Como hicimos presente la necesidad de una doble consideración, al tratarse de determinar la materia orgánica del agua, así también con respecto á los microorganismos existentes en el mismo líquido debe presidir la doble consideración de *calidad* y de *cantidad*. Si el primero de estos puntos se halla suficientemente esclarecido, si la condenación terminante de un agua que encierre gérmenes considerados patógenos es cuestión que no se discute, no sucede otro tanto acerca de saber si terminante debe ser tambien el rechazo de un agua simplemente cargada de gérmenes saprófitos. La más breve consideración del asunto, desde el punto de vista higiénico, resuelve la duda por la afirmativa. Recuérdese, sino, lo que dice la experiencia sobre los malos efectos de las aguas cargadas de materia orgánica, aunque libres de infección específica. I bien ¿sábese si esta mala cualidad es inherente á la propia materia orgánica, ó acaso es el resultado de la actividad bacteriana? En

el CAPÍTULO VII. sólo podíamos considerar el asunto con referencia á la primera hipótesis y, en vista de la enseñanza sacada de los varios ejemplos traídos á cuenta, la conclusión tenía que ser condenatoria; ahora, explicados los rasgos fundamentales de la nutrición de las bacterias, es légitima la deducción de que el mal proviene de éstas, máxime teniendo en cuenta que en las aguas tal como se encuentran en la naturaleza hay concordancia notable entre la cantidad de materia orgánica y la abundancia de microorganismos; sin significar esto que en las aguas al parecer organicámente puras, no puedan desarrollarse especies microbianas de carácter patógeno. Al decir concordancia, no queremos decir tampoco que ocurra caso á caso, sino que en general, comparando un grupo de aguas, eso es le que sucede. El cuadro adjunto formado con datos relativos á las aguas usadas en Valparaíso como potables, prueba la verdad de la observación.

Nos.	AGUAS DE VALPARAÍSO (Verano de 1887).	EXAMEN BACTERIOLÓGICO.	EXAMEN ORGÁNICO.		
		Colonias, por 1 cc. de agua, brotadas en jaletina de caldo natural, después de 2 días de cultivo á 20°.	Amoníaco.		Oxígeno consumido por la materia orgánica [Permanganato alcalino].
			Libre.	Albuminóideo.	
			MILIGRAMOS POR LITRO.		
1.	El Salto	25	Vestigios	·005	·38
2.	Quebrada Verde . .	1000	·010	·150	5·40
3.	Id de San Agustín . .	3864	·160	·275	8·—
4.	Id de Jaime	380	·015	·050	1·50
5.	Id de Polcuro . . .	15200	·134	·160	6·—
6.	Pozo Child	4100	·105	·140	8·80
7.	„ Mackay . . .	4620	·175	·160	8·70
8.	„ Ortiz	2856	·080	·100	7·85
9.	„ Colón (No usada como potable) . .	1200 (24 h.)	12·—	·120	6·20

Las cifras correspondientes al examen bacteriológicos son deducidas multiplicando el número efectivo de colonias observadas á ojo, por los respectivos coeficientes de dilución. El tiempo de incubación, dos días, es demasiado corto para cultivos en gelatina, pero la licuación prematura del medio nutritivo en el caso de algunas de las aguas, habría impedido la inclusión de ellas en el examen comparativo. Demás está decir que si no todos los ensayes se refieren al mismo día, las condiciones de siembra y cultivación son idénticas para todas las muestras.

En los ejemplos anteriores, la dilución es llevada á $\frac{1}{50}$ á causa de las colonias licuantes que al cabo de dos ó tres días empiezan á hacerse confluentes, dificultando así la cuenta general.

Si se acepta, entonces, como útil y aún se exige como necesaria la determinación cuantitativa de la sustancia orgánica de las aguas, todos las razones están por que se proceda de un modo enteramente análogo al tratarse de la investigación bacteriológica. El argumento de que aún las aguas más puras pueden llegar á encerrar millones y millones de gérmenes no es válido en este caso, visto que se trata de las mismas aguas después de recogidas y mantenidas, no importa á qué temperatura, en condiciones que no son las de la naturaleza: en ésta, lo repetimos, las aguas mas limpias de materias de origen orgánico son también las más limpias de microbios, como sucede con las de fuentes ó de pozos profundos; y las más contaminadas en aquel sentido son las más cargadas de gérmenes.

El examen bacteriólogico debe ser, pues, *cualitativo* y *cuantitativo;* y á este último respecto menester es agregar, que sólo razones de facilidad, y de economía

de dinero ó de tiempo pueden llevar á la adopción de los métodos más sencillos con preferencia á los más exactos.

Interpretación de los resultados del examen estadístico.—Nada suele ser más útil ó nada más ilusorio, como valor higiénico, que los datos cuantitativos acerca de los diversos elementos que pueden impurificar un agua,—excepción hecha de las sales tóxicas, con las cuales no cabe esta distinción. Todo depende, naturalmente, de la manera de considerar las cosas, pues, á no ser así, concluiríamos, por ejemplo, que las más débiles infusiones de té ó café que diariamente bebemos, no eran aceptables por que el análisis revela en ella mayor cantidad de materia orgánica que en la más orgánicamente contaminada de las aguas naturales. Es difícil extravío de tal naturaleza en la interpretación de los datos del examen químico pero, con referencia á la impurificación bacteriológica, no es improbable se presente el caso de titubear por lo menos, cuando aguas que se reputan con razón como de las más puras, pueden revelarnos en una sola gota, número de gérmenes que asombra. No es esto una mera suposición. Para cerciorarse, no hay sino que hacer una siembra en gelatina nutritiva, con 1 cc. ó menos, de la más exquisita agua de manantial, después de guardada solamente un día en las botellas ó garrafas más limpias que es posible imaginar, domésticamente hablando. Antes de dos días mostrará el cultivo prodigiosa exhuberancia de aglomeraciones ó colonias, cuya cuenta será casi imposible, sobre todo si han brotado algunas colonias licuantes. Sin embargo, el análisis orgánico señalará siempre los caracteres de un agua purísima, lo que, unido principalmente á los otros antecedentes de limpieza, bastaría para que se pueda

considerar el agua de nuestra referencia como higiénicamente aceptable. No obstante cada trago de ella significa acaso la ingestión de millones de microbios! Pero ya sabemos que así como hay moléculas y moléculas también hay microbios y microbios. Por otra parte esos números hablan más á la imaginación que al raciocinio, pues un ligerísimo cálculo nos ha permitido averiguar (CAP. VII.) la extrema nulidad de esos organismos unicelulares, como masa, como materia; y si esas células son de carácter innocuo para el hombre, bien se comprende al instante el alcance que deberá darse, á veces, á los números en cuestión de estadística microbiana.

Pero no es este el modo de discurrir si se trata de averiguar la proporción de gérmenes que encierra un agua al tomarla de su fuente natural, ó bien de los depósitos y cañerías que sirven á su distribución en una ciudad. Los resultados numéricos excesivos no provendrían, en tal caso, de la multiplicación rápida de unas cuantas especies microorgánicas, gracias á una elevación de temperatura, por ejemplo, ó á las condiciones de inmovilidad del agua en un pequeño recipiente; no: dada la fresca temperatura que deben tener las aguas naturales destinadas á la bebida, y dado su constante movimiento, p. ej. si circulan por cañerías ú otra forma de canalización, mucha abundancia de microorganismos revela indudablemente condiciones favorables del agua á la existencia de los mismos, y con ello, la mayor probabilidad de que puedan hallarse presente especies nocivas, sea por su carácter patógeno, sea por las trasformaciones que pueden hacer experimentar á la materia orgánica de un agua fuertemente contaminada.

Es más: el hecho de que un agua esté cargada de

gérmenes al tomarla de su misma fuente implica, según lo anterior, la presencia de sustancia orgánica más ó menos abundante, la cual no puede provenir sino de contaminación externa. Luego, entonces, las aguas de esa naturaleza prueban no estar al abrigo de ensuciamiento, con todos los peligros que esto encierra, principalmente en época de epidemia.

Hay que dar, pues, á la estimación cuantitativa de las bacterias del agua, por lo menos el mismo alcance que á la determinación, del grado de impureza orgánica tomado también cuantitativamente: en unos casos el conocimiento claro y preciso de circunstancias actuales y de antecedentes permite considerar desde el primer momento como desprovistos de importancia los resultados numéricos obtenidos; en otros, por el contrario, á falta de todo indicio ó dato de carácter cualitativo, hay que interpretar tanto más desfavorablemente dichos resultados, cuanto mayor sea la cantidad de sustancia orgánica ó el número de colonias revelado por el examen bacteriológico. Esta manera de pensar es perfectamente legítima mientras tenga por base la probabilidad á que hicimos referencia más arriba; y en higiene como en muchas otras materias, cuando falta la información precisa, necesario es atenerse al cálculo de las probabilidades.

No modifica en nada la conclusión anterior el hecho de que microbios patógenos puedan encontrarse en aguas muy puras de acuerdo con el análisis orgánico, y clasificables en la misma categoría, á atenerse exclusivamente al pequeño número de colonias brotadas en un cultivo en planchas, por ejemplo. Lo que esto prueba, —ya lo hemos repetido en las otras partes de este libro al discutir el punto con referencia á cada una de ellas,— es simplemente que en materia de contaminación

orgánica ó bacteriana, la investigación cualitativa es con mucho de más utilidad, sin duda alguna, que las más exactas determinaciones simplemente ponderables para la sustancia orgánica, y estadísticas para los gérmenes; pero de ningun modo, que carezca de notable valor higiénico toda noción referente á este último punto, en especial si es es utilizada con regularidad.

Serán ilusorios los resultados obtenidos, únicamente cuando no se tomen las precauciones necesarias para evitar la multiplicación, por lo común rapidísima, de las bacterias del agua, en las condiciones que hemos dicho les son favorables. De aquí nace un cúmulo de precauciones, sin las cuales los resultados pueden llegar á ser extravagantes y, por cierto, sin el menor valor comparativo; precisamente lo único que se necesita para anular ó reducir á su mínimo la importancia del examen estadístico de los gérmenes bacterianos del agua. Los siguientes experimentos harán ver más claramente de qué puede depender esta causa notable de error, afortunadamente nada difícil de evitar.

El agua de El Salto, tantas veces citada con relación á otros experimentos, era, durante el verano 1887-1888, cuanto puede exigirse como pureza tanto química como biológica. Tomada de las cañerías matrices ó muy cerca de ellas, y sembrada immediatamente en jaletina de caldo, nunca reveló arriba de 30 colonias por centímetro cúbico, después de 3 días de cultivo á la temperatura media de 20°; nunca, tampoco, el número de colonias brotadas bajó de 20 á 25,—uniformidad de resultados enteramente de acuerdo con los del examen químico de la misma agua en el período indicado. Sin embargo, nada era más fácil que obtener cifras fuera de toda proporción imaginable respecto á las apuntadas,

14

con sólo variar las condiciones de la siembra, sin alterar por cierto las del cultivo:

Muestras.	Planchas.	Colonias brotadas al cabo de: Un día.	Dos días.	Tres días.	Total en 1 cc.
1. Agua de El Salto (Casa del Sub-director de la Escuela Naval, 9 de febrero, 1887) tomada y sembrada inmediatamente en 15 cc. de jaletina, repartida en 3 planchas de cultivo. Cantidad de agua: $\frac{1}{2}$ cc.	1ª	0	3	5	
	2ª	0	3	3	
	3ª	0	5	6	
				14	× 2 = 28
2. Muestra tomada simultáneamente con la anterior, en idénticas condiciones, pero dejada 24 h. á la temp. media de 23° antes de practicar la siembra del $\frac{1}{2}$ cc.	1ª *	55	—	2720	
	2ª	120	—	2850	
	3ª	80	—	2680	
				8250	× 2 = 16500
3. Agua de El Salto (Pilón de Viña del Mar, 4 de febrero, 1887), traída al laboratorio á la temperatura ordinaria (23°) y sembrada al cabo de 1 h. de tomada. Cantidad de agua: $\frac{1}{2}$ cc.	1ª	—	—	272	
	2ª	—	—	305	
	3ª	—	--	206	
				783	× 2 = 1566

* Véase la Pl. VII., fotograma directo del cultivo original.

De intento hemos elegido, entre muchos experimentos de análoga naturaleza, llevados á cabo por la misma epoca, aquellos más fáciles de comparar, así por la pequeñez relativa de las cifras, como por tratarse de un agua excepcionalmente uniforme en sus caracteres; por lo tanto, la considerable disparidad en los resultados anteriores no puede achacarse sino á circunstancias especiales de tiempo y de temperatura, suficientes para falsear mas allá de todo cálculo los datos que se persiguen.

Hay todavía otras causas, no precisamente de error, pero sí capaces de inducir á él, caso de no tomarlas en cuenta. Se trata de ciertas circunstancias locales, más fáciles de hacer ver en qué pueden consistir, por medio de un ejemplo, que de pensar siquiera en precisarlas una á una. En Valparaíso, p. ej., á parte de su provisión principal, existen cantidad de vertientes ó manantiales que nacen en la cumbre de los cerros y que bajan por las diversas quebradas que rodean la poblacion. Examinadas esas aguas en su origen, como lo hemos hecho repetidas veces, son cuanto puede desearse como pureza química y biológica; pero, desgraciadamente, después de recorrer la mayor distancia más ó menos al abrigo de contaminación, recíbeselas en pequeños estanques, por lo general abiertos ó mal resguardados, sitos en medio de población numerosa, y por lo mismo expuestos constantemente á recibir todo clase de basuras. Como el caudal es poco, y en cada uno de esos estanques se hace diariamento la distribución, resulta que el volumen de agua está variando sin cesar, que el grado de contaminación orgánica aunque siempre elevado, varía sin embargo dentro de no estrechos límites y que, por último, otro tanto sucede

con respecto á las bacterias y microorganismos en general. Cualesquiera, entonces, que sean las precauciones tomadas para asegurar uniformidad en las condiciones en que se hagan las siembras y los cultivos de estilo, sucederá, á pesar de todo, que los resultados estarán en perpetua discordancia para una misma agua, con cortísimos intervalos de tiempo. ¿Qué valor comparativo podrá tener, sin previa consideración de estos antecedentes, la cuenta ó examen estadístico de los gérmenes? Ninguno, ó por lo menos insignificante.

He aquí los resultados correspondientes á tres quebradas de Valparaíso, en las diversas condiciones que se expresan:

	Quebradas.	Colonias por 1 cc.
1. Muestras tomadas de las pequeñas represas de distribución. Su temperatura media: entre 18 y 20°. Aguas diluidas á $\frac{1}{10}$; cifras obtenidas multiplicando el número redondo más aproximado de las colonias brotadas, por el coeficiente de dilución. Fecha: 2 de febrero de 1887.	Jaime	263,000
	Polcuro	310,000
	Quebrada Verde *	37,900
2. Muestras tomadas á la salida de la cañería ó conducto que alimenta á cada estanque. Temperatura media de las aguas sembradas: entre 14 y 15°. Fecha: 5 de marzo de 1887.	Jaime	450
	Polcuro	15,200
	Quebrada Verde	1,100

* Pequeño estanque receptor de una casa particular.

CAPÍTULO XII.

ELEMENTOS Y MÉTODOS GENERALES DE INVESTIGACIÓN.

Examinando el programa de las operaciones que pueden entrar en el examen bacteriológico de un agua (Cap. XIII., sec. I. y II.), obsérvase á primera vista que su realización requiere tres órdenes de conocimientos especiales (que en rigor pueden reducirse á los dos primeros), á saber:

I. Cultivación bacteriológica.
II. Técnica micrográfica.
III. Infección experimental.

Por consiguiente, para llegar á aplicar los métodos particulares que sirven para la cuenta y la determinación específica de los microorganismos del agua, indispensable son algunas nociones sobre los métodos generales que sirven de base á la microbiotécnica. Fuera innecesario consignarlas aquí, á no tratarse de una ciencia relativamente poco difundida todavía; así como en la descripción de los procedimientos especiales para el análisis mineral ú orgánico no tienen cabida ó razón de ser, p. ej., las nociones de filosofía química ó la descripcion de las manipulaciones ordinarias.

I. Cultivación bacteriológica.

Por *cultivación bacteriológica*, en su sentido más general, puede comprenderse el conjunto de procedimientos operatorios mediante los cuales se llega á aislar las especies bacterianas, y á hacerlas crecer y reproducirse indefinidamente, si es necesario, en forma de cultivos puros, y en diversidad de medios nutritivos y otras condiciones ; todo con el fin de hacer su cuenta ó de llevar á cabo el estudio de sus caracteres biológicos y morfológicos con un fin determinado. En el examen de las aguas este fin consiste en establecer el carácter diferencial de las especies halladas en ellas, para averiguar simplemente si son de las descritas como patógenas ó nó; otro orden de consideraciones exige, además, el conocimiento siquiera aproximado ó comparativo del número de gérmenes que esas mismas aguas encierran.

Para todo esto, como se ve, habrá que recurrir á los mismos procedimientos operatorios que hemos dicho forman la base de la investigación general, con todas las minuciosas precauciones que requieren, y sin las cuales no hay que esperar la menor probabilidad de éxito.

Dichas operaciones pueden dividirse como sigue :

A. Esterilización de los útiles necesarios.
B. Preparación y guarda de medios nutritivos.
C. Siembra, incubación y aislaimamiento de los gérmenes.

De cada una de ellas nos ocuparemos separadamente en seguida, sin entrar en los detalles que más bien tienen cabida al tratar del examen estadístico y cualitativo de las bacterias del agua.

A.—*Esterilización de aparatos y utensilios.*

Esterilizar un objeto ó un medio cualquiera significa, en términos bacteriológicos, limpiarlos por agentes físicos, químicos ó mecánicos de todo germen ó principio de vida; es decir, aniquilar por el calor ó por antisépticos, ó separar por medio de filtros finísimos, los organismos infinitesimales que á todo se adhieren y todo lo invaden, comenzando por nosotros mismos. La llave ó, si se quiere, la piedra angular de los métodos bacteriológicos, es la esterilización perfecta de los diversos elementos que entran en su aplicación. Recuérdese, sino, que desde Spallanzani hasta Pasteur todas las doctrinas de sus impugnadores en sostén de la heterogénesis ó generación espontánea basáronse principalmente en experimentos al parecer irreprochables, pero que no lo eran, como se ha comprobado después, por no cumplir con los requisitos de una esterilización absoluta de aparatos y medios nutritivos empleados.

Esta simple observación nos ahorrará el entrar en algunos detalles de precauciones evidentes por sí mismas, ó el tener que dar la explicación de algunas minuciosidades que parecieran inútiles á no tomarse en cuenta estos antecedentes.

Trataremos aquí solamente de la esterilización de los aparatos, recipientes y utensilios diversos; en cuanto á los medios de cultivo—líquidos sólidos ó gelatinosos—el modo de esterilizarlos queda envuelto en el procedimiento mismo de su preparación y guarda, según se describe en su lugar.

Esterilización por el calor.—Todo el envase destinado á la guarda ó conservación de los medios nutritivos, como ser matraces, tubos, etc., se esterilizan por este

medio; así como también los utensilios diversos que sirven para hacer las siembras, y las planchas ú otros recipientes en que se mantienen los cultivos. Es regla general lavar previamente del modo más completo todo este material de vidrio, tal como se indica para los recipientes destinados á las muestras de agua (CAP. XIII.).

En la esterilización por el calor hay que distinguir, para una misma temperatura, entre la acción del *calor húmedo* (de un líquido como el agua, p. ej., ó su vapor sobresaturado), y la acción del *calor seco* (del aire, de un vapor lejos de su punto de saturación, etc.). En el primer caso se estima más que suficiente una temperatura *efectiva* de 100 á 110°, durante un tiempo que puede variar entre pocos minutos, y un cuarto de hora ó más, según la resistencia de los gérmenes; en el segundo dos á tres horas á 160°, más ó menos, se consideran indispensables. En general, la acción esterilizadora es producto de dos factores: *grado de calor*, y *tiempo* en que éste actúa; con su *punto crítico*, es decir que bajando de cierta temperatura, ningún tiempo es suficiente para destruir la vitalidad de algunos gérmenes, ó su poder de reproducción en medio nutricio adecuado, aunque sí puédase por ese medio alterar determinadas cualidades de los mismos. Por ejemplo, las esporas del bacilo carbuncoso no resisten *cinco minutos* en agua á 100°, mientras que sus cultivos mantenidos indefinidamente al rededor de 35°, experimentan, cuando más, cierta atenuación en la virulencia.

Sin embargo, en la práctica, no es posible atenerse á la condiciones de mínimo tiempo y de temperatura que se han en contrado suficientes para destruir los gérmenes

de mayor resistencia conocida, teniendo en cuenta que el termómetro puede estar marcando el grado de calor requerido desde mucho antes que todas las partes de los objetos sometidos á esterilización lo hayan alcanzado. Para ponerse á cubierto de todo fracaso por este lado hay, pues, que adoptar, como en mecánica, un *factor* ó *coeficiente de seguridad*, que deje ancho margen entre las condiciones indicadas por la teoría y las que prudencialmente deben adoptarse en la práctica. Tomando previamente en cuenta el tiempo necesario para que todo el objeto adquiera la temperatura definitiva de esterilización, ésta debe todavía prolongarse :

En calor húmedo	de 108 á 110° .	.	10 á 15 minutos.
Id.	á 100° .	.	15 á 30 ,,
En calor seco	de 150 á 160° .	.	2 á 3 horas.

Salvo para algunos utensilios ó accesorios que pudieran experimentar alteración ó deterioro á los 150 ó 160°, el sistema más sencillo consiste en esterilizar todo el material en estufas de aire calentadas á esa temperatura. Por eso remitimos la descripción de los aparatos para esterilizar por medio del calor húmedo, á la sección B, de este capítulo, destinada á la preparación de los medios nutritivos, con lo cual tienen que ver los aparatos indicados de un modo más especial.

La fig. 17 representa un modelo de estufa de esterilización construida por Rohrbeck,* y también, de acuerdo con principios parecidos, por Muencke, de Berlín. Es lo mejor en su género que hemos visto funcionar en diversos laboratorios. Es toda de hoja

* 24, Karlstrasse, N.W. Berlín. Precio del aparato de 24 ctm. de altura interior, 32 marcos; del gran modelo de 45 × 28 × 28 ctm., 63 marcos.

de acero, y no sólo de dobles paredes, sino que también con ventiladores de aire caliente *a a*, *a a* (Fig. 18), para impedir el enfriamiento interno. La sección demuestra como funciona el aparato: el aire se calienta en la parte inferior, y tanto en las cámaras *c c* como en los compartimentos *d d*, al dilatarse provoca una corriente en el sentido de las flechas, yendo á salir por *s*. El aire en el espacio E, no puede renovarse, como se ve, sino por medio de los ventiladores

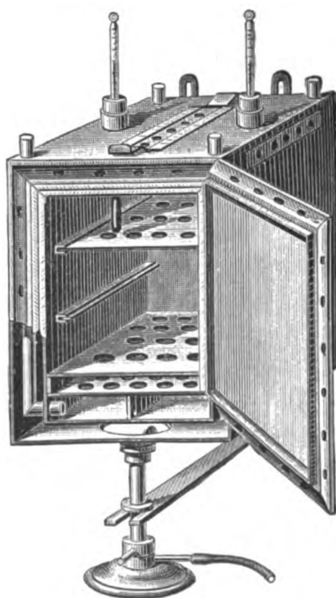


Fig. 17.—Estufa de Esterilización de Rohrbeck.

a a, calentándose previamente en ellos. Una corredera con aberturas circulares que coinciden con otras en la parte superior de la estufa, sirve para regular la corriente, y un termómetro *t*, indica la temperatura.

No hay necesidad de un regulador especial de ésta, si la presión del gas es constantemente la misma. Gracias á combinaciones como la descrita, lógrase grado de calor uniforme en toda la cavidad destinada á recibir los frascos, tubos, y otros utensilios que se necesita esterilizar. Naturalmente la temperatura á que se puede elevar el aire interno dependerá de la intensidad del foco calorífico.

Otro modelo de estufa esterilizadora es el de la fig. 19. La construcción en este caso es mucho más sencilla, pues se reduce á una doble caja, cada una con su correspondiente puerta; quedando la caja interna separada

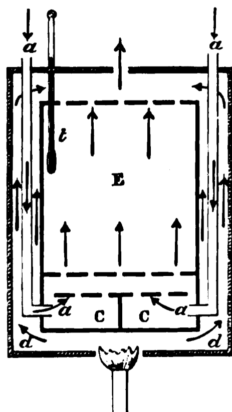


Fig. 18.—Diagrama que demuestra el sistema de calefacción en la estufa anterior.

de la otra por un especio de aire. El aire, que afluye por aberturas hechas en la tapa inferior, se calienta en el compartimento inmediato, y después de rodear el receptáculo interno se escapa por la chiminea C. Un termómetro T que atraviesa la doble cubierta de encima, indica la temperatura del aire en una parte de

la cámara solamente, ya que el grado de calor no puede ser uniforme sino que necesariamente irá decreciendo de abajo hacia arriba. Lo que importa en este caso es procurar que en las partes más alejadas del foco de calor, el grado de éste sea el mínimum requerido en la práctica para obtener una eficaz esterilización. Poco significa que en la base la temperatura alcance á 180 ó más grados, pues el material usado no se altera más en tal condición que á 30° ó 40° bajo los indicados.

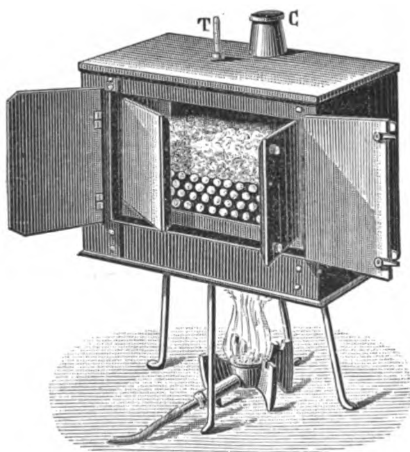


Fig. 19.—Estufa de esterilización. (Klein.)

Por otra parte, los tapones de algodón de los tubos ó de los frascos, quedan á demasiada altura del fondo, para que haya temor de que se tuesten de un modo excesivo.

Las mismas observaciones que se acaban de hacer sobre la estufa anterior, tienen cabida para la siguiente (Fig. 20) que no es otra cosa que una cocina de gas de las que ce encuentran en el comercio. Lo único que podemos decir en su abono es que con su empleo se puede

esterilizar, tan bien como con el aparato perfeccionado descrito en primer término, cuanto material sea necesario. No corresponde, efectivamente sino á la estufa que hemos descrito en el parrafo anterior, salvo lo de la puerta, que en este caso es de una hoja sencilla. De

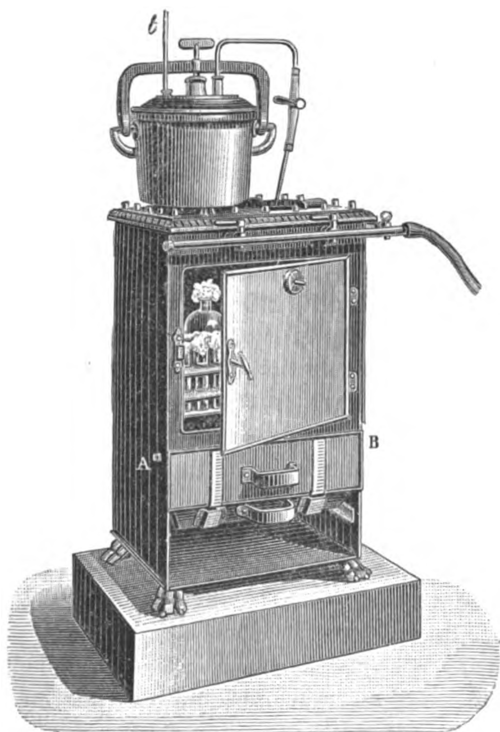


Fig. 20.—COCINA DE GAS USADA COMO ESTUFA DE ESTERILIZACIÓN, ETC.

aquí resulta que hay decrecimiento en el grado de calor no solamente de abajo hacia arriba sino de el fondo hacia, el frente. Esto último, no obstante, se disminuye grandemente nada más que recubriendo con

una plancha de asbesto la dicha puerta ó tapa delantera. En cuanto á la temperatura que reina en el interior, no es necessario para estimarla un termómetro especial: lo mejor es estudiar experimentalmente y determinar una vez por todas, qué temperaturas adquieren, más ó menos, las diferentes partes internas del aparato, con un largo dado de llama de la batería inferior A B, á la cual llega el gas por un tubo lateral (no visible en la figura) que arranca del distribuidor superior, en el cual tiene su llave correspondiente (la tercera de la derecha). Con unas cuantas observaciones se adquiere práctica de sobra para que todo marche á entera satisfacción.

Pero la principal ventaja en adoptar como esterilizador el aparato descrito, á parte de su sencillez y baratura,* es que combina con eficacia la facilidad de utilizarlo en la preparación de medios de cultivo y su esterilización por el calor, y en general en tantas otras operaciones de la práctica constante de un laboratorio para esta clase de trabajos. Su mejor colocación es al centro de la pieza, y si es posible al pie de una lámpara de gas, de manera que sea fácil unirlo á la cañería por medio de una corta manguera de caucho, que por su posición en nada estorbe el libre pasage al rededor del centro operatorio.

Esterilización por antisépticos.—No puede tener aplicación sino en determinados casos: cuando los recipientes ó utensilios no están destinados á tener en contacto medios nutritivos ó cultivos de cualquier

* 40 á 50 pesos de nuestra moneda, con una colección de vasijas, teteras y otros accesorios, de lo cual no hay nada que no sea de inmediata utilidad en la confección de jaleas, caldos, y otras artículos de la "cocina bacteriológica".

género. Se comprende que, de otro modo, la acción esterilizadora se comunicaria á unos ú otros. De todas maneras, si fuese necesario esterilizar por antisepsia algún objeto dado, haráse la operación lavando el objeto, con una disolución al 2 por mil de bicloruro de mercurio, el germicida más eficaz que se conoce. Mejor, aún, es la disolución de bicloruro acidulada con ácido tártrico, que se indica en la pág. 300.

B.—*Preparación, esterilización y guarda de los medios de cultivo.*

Los medios nutritivos—líquidos, sólidos ó semisólidos—destinados al cultivo de los microorganismos en general, corresponden exactamente como objeto, á los diferentes terrenos en que se cultivan vegetales de orden superior. La semejanza entre ambos procedimientos no se limita á esta condición elemental, sino que se extiende á la afinidad selectiva de la planta ó de la célula; á su acomodación á un medio ó terreno, de preferencia á otro, como requisito de exhuberante crecimiento. Y, no solamente existen, á tal respecto, las necesidades de la clase ó del grupo, sino también las particulares de la especie. Ateniéndonos únicamente á los microorganismos vemos, *v. gr.*, que los mohos y fermentos se acomodan fácilmente á un medio acídulo, en tanto que los esquizomicetos ó bacterias generalmente vegetan mal en medio semejante, habiendo especies tan sensibles (por ejemplo los espirilos colerígenos), que perecen cuando la acidez, pasa de cierto grado que en nada altera la vitalidad de otros gérmenes. Esta sola observación nos demuestra, desde luego, que los medios de cultivo, de cuya preparación vamos á ocuparnos, deben ser neutros, y aún ligeramente alcali-

nos, visto que los gérmenes que de preferencia nos interesa averiguar si existen ó no en las aguas, viven vida más exhuberante en esta condición del nutrimento. Por desgracia, sin embargo, siendo tan superficialmente conocidas las necesidades nutritivas de las diferentes especies bacterianas, no pueden llevarse mucho más allá las prescripciones sobre la naturaleza y cantidad de los principios nutricios que deben entrar en la preparación de los medios de cultivo. Cuando más, basándose principalmente en los resultados de la observación experimental, hase podido llevar el conocimiento hasta adquirir una idea acerca de las sustancias más apropiadas para formar el condimento del cual las células en cultivo deben derivar los principios nitrogenados, hidrocarbonados y minerales indispensables á su nutrición; y acerca, además, del grado de riqueza del medio con respecto á esas sustancias, pues es de advertir que los extremos, tanto en el sentido de la concentración como en el de la dilución, son desfavorables.

Por la vía empírica hase encontrado que la sustancias más á propósito, en general, son las peptonas, los extractos de carne y el jugo natural de la carne misma. De aquí resulta que los medios líquidos para el cultivo de las bacterias no son sino caldos naturales ó artificiales, en nada diferentes de los que el hombre usa, como no sea en lo de purgación absoluta de todo germen vivificable para los primeros, y en otros detalles secundarios.

Lo que no debe perderse jamás de vista, es la elección cuidadosa del medio de cultivo, según sea la naturaleza de la investigación que se prosigue: si lo que se quiere es un examen cualitativo de los gérmenes, hay amplia

libertad, naturalmente, para escoger ó ensayar cuanto terreno parezca más apropiado en cada caso particular; pero, si junto con lo anterior se quieren datos estadísticos sobre el número aproximado de las bacterias de una misma agua en diferentes períodos de tiempo, ó de varias aguas que es necesario comparar á la vez, entonces, decimos, hay que adoptar con uniformidad, no sólo condiciones generales de cultivación, sino el empleo de idéntico medio nutritivo.

Preparación de los caldos. 1. *Caldo natural.*—Sería difícil, en la práctica general del estudio bacteriológico de las aguas, encontrar un reemplazante realmente ventajoso al caldo natural empleado por el Dr. Miquel en sus clásicas investigaciones sobre los organismos del aire. En su preparación hemos seguido siempre las prescripciones de este sabio micrógrafo, tal cual se encuentran en su conocido libro sobre los gérmenes atmosféricos; helas aqui: *

Echase á cocer en 4 litros agua, durante cinco horas, 1 kilógramo de carne muscular flaca, de buey; espumada constantemente la decocción desde que empieza á hervir, déjase en seguida en reposo, en un lugar fresco, hasta el día siguiente; se desgrasa y se neutraliza por la soda cáustica. (Neutralización del ácido sarcoláctico.) Hecho esto, se hace hervir durante diez minutos, se filtra, y se reemplaza con agua común, hasta enterar los 5 litros primitivos, la evaporada durante las anteriores operaciones. No queda, ahora, sino esterilizar el caldo así obtenido y guardarlo para el uso en receptáculos convenientes. De esta doble operación, que es simultánea, nos ocuparemos en seguida.

* P. Miquel. *Les organismes vivants de l'atmosphère.* Gauthier-Villars, Paris, 1883, p. 152.

Los caldos que no han sido preparados con las precauciones debidas no quedan perfecta é indefinidamente transparentes y límpidos, sino ligeramente turbios ú opalinos, y continúan dando precipitados hasta un mes después de su fabricación. A propósito de esto agregaremos que, si después de la filtración el caldo resulta completamente transparente, es raro que no conserve esta apariencia de un modo definitivo. El defecto se puede así notar en tiempo oportuno, antes de perder el tiempo en esterilizar un producto inútil. Más de una vez hemos notado turbiedad después de filtración con papeles de calidad inferior, y la prueba que á esta causa y no á otra debía achacarse el defecto, estaba en que, apelando á buen papel de Suecia ú otro usado en los análisis químicos, toda rebeldía á la clarificacion cesaba.

Este caldo, que conviene más bien preparar de una vez en buena cantidad, ya que el tiempo empleado en todo caso es aproximadamente el mismo, sirve para los cultivos líquidos y para la preparación de las jaleas nutritivas, segun se describirá en otro lugar.

2. *Caldo artificial peptonizado.*—El mismo autor * recomienda todavía como más sensible el siguiente caldo fabricado con peptona artificial :

Peptona de Chapoteau .	20 gramos.
Gelatina	2 ,,
Sal marina . . .	5 ,,
Ceniza de leña, tamisada .	0·50 ,,
Agua ordinaria . .	1000 cc.

Para preparar este caldo, se hace disolver en una cápsula de porcelana que contenga agua común, la

* "Dixième Mémoire sur les Poussières organisées de l'Air et de l'Eau—*Ann. de l'Obs. de Montsouris*, 1888.

peptona y la sal marina; después se agrega la ceniza y se neutraliza el todo. Fíltrase, y en el líquido filtrado se disuelven unos cuantos centímetros cúbicos de jalea clarificada que contengan 2 gramos de la gelatina seca. El caldo peptonizado es más alterable que el caldo de buey; las sensibilidades de ambos con respecto á las bacterias de las aguas son entre sí como 1 es á 1·06.

Lo que no es mucho, por cierto; pero en cambio las dificultades de preparación de un buen medio de cultivo se reducen á su mínimo adoptando el caldo artifical.

3. *Caldo de carne y peptona* (Infusión de *Loeffler*).— Este es el más sensible de todos. Prepárase poniendo á macerar por 24 horas (en una heladera, si el tiempo es caluroso) 1 kilógramo de carne de buey, cruda y picada en menudos pedazos, en 2 litros de agua. La carne debe ser limpia de grasa y de nervios. Se cuela en seguida todo en un saco de muselina, teniendo cuidado de exprimir bien la carne para que salga todo el jugo. Al líquido turbio y rojizo así obtenido se agregan 10 gramos de peptona seca en polvo y 5 gramos de sal marina; después se calienta todo en baño de maría hasta la ebullición. Se neutraliza en seguida el licor caliente, cuya reacción es tanto más ácida cuanto menos fresca es la carne que se echa á macerar. Con ese objeto se le agrega carbonato sódico en disolución saturada, hasta que una gota del caldo, puesta sobre el papel rojo de tornasol, lo azule ligeramente. Si esta débil alcalinización ha ido más allá de lo necesario, se la reduce por medio del ácido láctico. Se mantiene en seguida la infusión durante una á dos horas en el esterilizador á vapor (véase poco más adelante) y, después de enfriada, se filtra á través de doble papel, á fin de retener en éste los abundantes depósitos de materias albuminóideas y de

sales que se han formado. El líquido de tinte ambarino que resulta después de todas estas operaciones, vuélvese á veces ligeramente turbio cuando caliente; se le deja entonces reposar durante 24 horas, con lo que se obtiene la sedimentación completa de las sales fosfáticas difíciles de retener por filtración, y no faltará nada más que decantar el líquido absolutamente claro. Una segunda filtración, raramente necesaria, da un líquido transparente como el cristal. Conviene por último, al llegar á este punto, ensayar si el grado de alcalinidad no ha experimentado alteración.*

Este caldo debe esterilizarse de preferencia por el método discontinuo, ó por filtración á través de la porcelana, procedimentos ambos, descritos en seguida.

Esterilización, guarda y trasiego de los caldos nutritivos.—Existen ó se emplean en los laboratorios tres métodos generales para la esterilización perfecta de los caldos ó líquidos destinados á los cultivos bacteriológicos. Esto es, en cuanto á los principios físicos en que se funda tan importante operación; que por lo que hace á los detalles prácticos el número de procedimientos particulares no tiene límite. Naturalmente depende esto de mil circunstancias diversas, comenzando por las miras propias del operador y acabando por los elementos disponibles en un laboratorio. Fuera, pues, inútil preconizar en absoluto tal ó cual manera de operar, sabiendo que con sano criterio y decidida voluntad se llega al fin apeticido por cualquier camino aceptable, cuando la vía principal está obstruida.

En realidad, los métodos generales son solamente

* Detalles tomados del tratado de HUEPPE—VAN ERMENGEM: *Manuel technique de Microbiologie.* G. Steinheil, Paris, 1887.

dos: (1) estirpación de los gérmenes en un líquido por la acción del calor, y (2) sustracción de los mismos por filtración adecuada del líquido. El primero se subdivide en dos maneras diferentes de operar, según sea la temperatura que en cada caso se adopte.

1. *Esterilización á mas de 100° grados en una sola operación.*—El aparato más usado con ese objeto no es otro que una marmita de Papín, de dimensiones suficientemente grandes para que en su interior puedan colocarse cómodamente globos de vidrio llenos de caldo por esterilizar y cerrados á la lámpara ; ó bien tubos ú otros recipientes *ad hoc.* Se sabe que estos antiguos aparatos, usados en un principio como digestores, son fuertes receptáculos, verdaderas calderas con su llave de vapor, su manómetro, su válvula de seguridad, etc., gracias á lo cual se puede obtener en ellas presiones internas de vapor de agua mayores de una atmósfera, con las correspondientes temperaturas superiores á 100° segun las conocidos relaciones :

Atmósferas.	Temperaturas.
1	100°
1·20	105°
1·40	110°
1·66	115°
etc.	etc.

Wiesnegg, de Paris, (64, r. Gay Lussac) fabrica estos aparatos de diverso tamaño, en la forma que indica la fig. 21.* Salvo consideraciones de orden puramente económico, no hay otras que oponer á su adopción como aparato el más conveniente en su género. El manómetro está graduado con las indicaciones ter-

* **Precio del modelo de 20 ctm. de diámetro interior: 200 francos.**

mométricas correspondientes, de suerte que se conoce la temperatura junto con la presión. Fuera de la graduación de la válvula, no requiere otra precaución

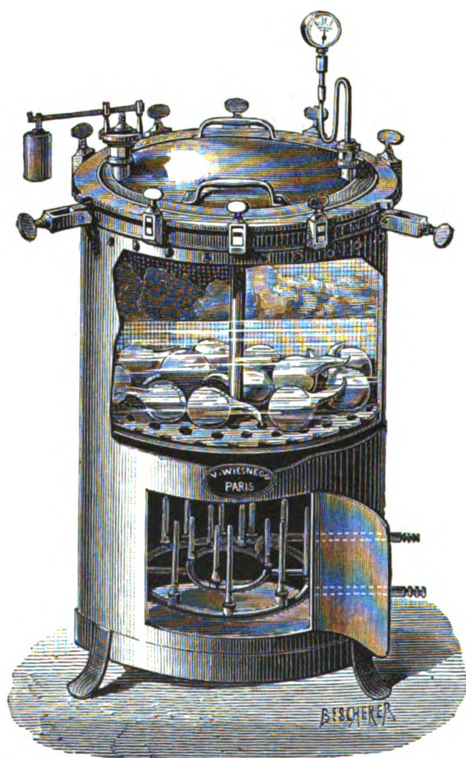


Fig. 21.—Autóclave para esterilizaciones de 100 á 115°.

que la de dejar abierta la llave de escape por unos momentos al principio de la operación, con el fin de que salga el aire, y la cámara no quede sino con vapor de agua sobresaturado. Como á la elevada tempera-

tura de ciento y más grados algunos líquidos ó caldos experimentarían alteración, no conservando ya las mismas propiedades nutricias que cuando sólo han sido sometidos al tratamiento de preparación pura y simple sin esterilización, en tal caso, decimos, se puede utilizar el mismo aparato á 100 ó menos grados, no levantando presión, si se deja abierta la llave de la tapadera. En rigor, entonces, no hay necesidad del autóclave, y el simple esterilizador á la presión ordinaria, fig. 25, sirve al objeto, y aún el de la fig. 26, si se recurre á la esterilización discontinua.

Se puede también utilizar para las esterilizaciones bajo presión, las marmitas ó digestores de hierro fundido que se encuentran en el comercio, siempre que se les agregue las disposiciones ideadas por el Prof.

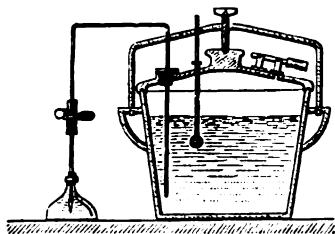


Fig. 22.—Marmita de Fol, para la esterilización de los caldos, etc.

Fol, de Ginebra,* para el trasiego y envase de los caldos ú otros medios nutritivos fluidos, al abrigo

* "Nouvelle méthode pour le transvasage des bouillons stérilisés et le dosage des germes vivants contenus dans l'eau," *Arch. d. Sc. Phy. et Nat. de Genève*, Junio 1884. Véanse, también, con respecto á otros detalles de los procedimentos del Dr. Fol, los Nos. 615 y 619 de *La Nature* (1885).

de toda contaminación por organismos del aire. Hay que agregar á la tapadera de uno de esos recipientes, cuya capacidad puede variar entre 4 y 8 litros, dos aberturas, fuera de la que siempre traen frente al sopapo de la válvula de seguridad: una, para atornillar por debajo un tubo de bronce cerrado por su parte inferior, y destinado á recibir un termómetro graduado hasta 110° lo menos; y la otra para dar pasage á la rama larga de un sifón acodillado hecho con un pedazo de tubo de bronce, como de tres milímetros de diámetro interno. En la cavidad alargada en que se introduce el térmometro, se echa un poco de aceite á fin de que el receptáculo con mercurio de este último instrumento quede bañado en un líquido cuya temperatura sea casi idéntica á la que reina en el interior de la marmita. La abertura destinada al sifón consiste en una doble tuerca, la de abajo unida á firme y herméticamente á la tapadera, y la de arriba susceptible de atornillarse más ó menos dentro de la primera, para comprimir cuanto sea necesario un corcho perforado, ú otra empaquetadura á propósito, á través de la cual pueda correr á frotamiento forzado, la dicha rama larga del sifón: las condiciones de ésta son idénticas á las del vástago de un pistón de máquina á vapor. La rama corta està unida á una cánula ó aguja hueca, cuyo objeto explicaremos en seguida, por una manguerita de goma (en la figura está erróneamente representada por un pedazo corto), exteriormente forrada en tela, para que no pueda estallar á causa del aumento de presión interna. Por fin, unas pinzas pueden cerrar fuertemente la manguera en parte cualquiera de ella, interceptando toda comunicación entre el recipiente y la atmósfera.

Es fácil concebir que cuando el sifón ó tubo acodillado está en la posición que indica la figura, todo aumento de presión interior hará salir el líquido por la cánula perforada, en cuanto se abran las pinzas; y que si la rama del sifón no alcanza á estar sumergida en el líquido, será vapor el que se escape, con más ó menos fuerza, según la tensión. Esta doble función que puede desempeñar el tubo encorvado se utiliza: en el último caso indicado para esterilizar previamente todo el conducto y la cánula mediante una enérgica corriente de vapor mantenida durante unos diez minutos, y en el primero, para trasegar el líquido, una vez esterilizado, p. ej., durante media hora á 110°, á tubos ó matraces de antemano esterilizados por su parte. Anejos a la operación de envasar los líquidos esterilizados en el aparato anterior, se hallan dos pequeños accesorios fáciles de describir en unas cuantas palabras. Es el primero la cánula (Fig. 23)* de que hablamos más arriba, delgado tubo de níquel (de 2 mm. de diámetro externo más ó menos) con una pequeña abertura lateral en la extremidad inferior, poco antes de que empiece una punta de acero, de sección triangular ó cuadrangular, para que sea más fácil su introduccion á través de los tapones representados en la Fig. 24. La pieza principal de éstos es una especie

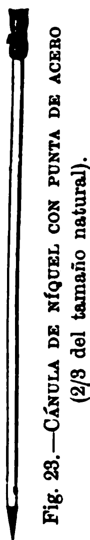


Fig. 23.—Cánula de níquel con punta de acero (2/3 del tamaño natural).



Fig. 24.—Sección del tapón de Fol. (2/3 del tamaño natural).

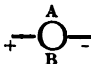
* Tanto estas cánulas como otros objetos metálicos delicados de

de dedal de vidrio,* perforado en la parte inferior. En el fondo de dicho receptáculo se comprime un poco de asbesto, bien desmenuzado, como hasta un centímetro de altura. El hueco restante lo ocupa un tapón de algodón. Para tapar un frasco ó matraz, etc., por este medio, se toma un disco de algodón acolchado y se centra sobre el gollete, en seguida se toma uno de los tapones anteriores y se embute todo cuidadosamente, á fin de no romper el dedal de vidrio.

Si se tienen apercibidos de antemano diversos recipientes tapados en esta forma y esterilizados debidamente, nada más fácil que trasegar el líquido de la marmita á aquellos recipientes. En efecto, después de haber hecho pasar por la cánula la corriente de vapor durante los diez minutos indicados, y de pasar á la llama de una lámpara la extremidad de dicha cánula, se quita el tapón superior de algodón y se perfora la capa de asbesto, y la de algodón que recubre el fondo; después no queda sino bajar el sifón en la marmita y

aparatos bacteriológicos se hacen en el establecimiento óptico de O. Schmidt, calle de la Esmeralda, Valparaíso.

* Entre varios otros procedimientos para fabricar uno mismo, fácilmente y en poco tiempo, gran número de estos pequeños receptáculos, he aquí uno: córtense, á 25 m.m. del borde, tubos de ensaye de diámetro inferior en unos cuantos milímetros al de los cuellos que se van á tapar. En seguida, el borde recién cortado de los cilindros resultantes, se voltea á la lámpara soplete, hasta que venga á formar una pequeña abertura circular, como del diámetro de un lápiz. Un medio expedito de cortar los tubos consiste en tomar dos pedazos de alambre de platino, rodear con ellos el vidrio como lo indica el diagrama,



hacer pasar una corriente por los circuitos derivados A B, y echar unas gotas de agua oportunamente,—todo cuestión de segundos.

abrir las pinzas poco á poco, para que por la gran diferencia de presión pase el líquido esterilizado á los frascos receptores.

En realidad, el tapón descrito no es indispensable, y el muy sencillo usual, formado de un pelotón de algodon que entra algo apretado hasta dos ó tres centímetros en los tubos, ó los golletes de los matraces, es cuanto se necesita. En tal caso, la cánula bien esterilizada se introduce entre el algodón y el vidrio, teniendo antes la precaución de pasar el primero ligeramente por la llama.

Aunque hasta aquí no se ha hablado sino de esterilizaciones á temperaturas que se estiman más que suficientes para destruir en los caldos todo microbio ó germen de microbio, como práctica general, sin embargo, no se deben emplear en ningun género de investigación dichos caldos, sin someterlos primero á una incubación de varias semanas, ó de días por lo menos, en la estufa de cultivos regulada á 35 ó más grados. Esta prueba reglamentaria rige con mayor razón para los líquidos nutritivos esterilizados á 100° en el aparato que se describe á continuación, ó por cualquiera de los dos métodos de que falta tratar aún.

Koch, después de numerosas investigaciones con el fin de simplificar las engorrosas operaciones de una esterilización á más de 1 atmósfera, acepta como suficientemente eficaz el procedimiento de someter los medios nutritivos á la temperatura *efectiva* de 100°. Hace esta distinción de efectiva porque en condiciones defectuosas, fáciles de evitar por otra parte, el termómetro puede estar marcando 100°, como hemos dicho, y mientras tanto algunas partes de los objetos colocados en la cámara de vapor puede que no lleguen á esa temperatura. Basta recordar, en apoyo de este acerto, lo

que se enseña en física elemental sobre la graduación del punto 100° del termómetro de mercurio: en un recipiente de simples paredes el vapor de agua se enfría rápidamente y no alcanza á 100°, aunque el agua esté hirviendo á la presión ordinaria de una atmósfera; por consiguiente para determinar el punto de ebullición se echa mano de un aparato de dos cilindros concéntricos, gracias á lo cual el de adentro queda separado de la atmósfera por una capa de vapor.

En el esterilizador de vapor (Fig. 25) á 100° se

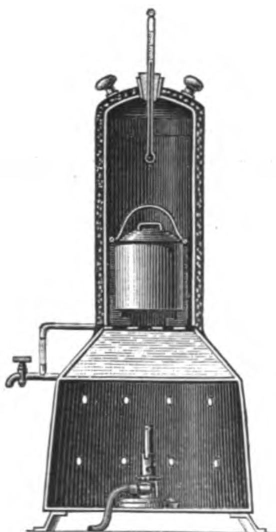


Fig. 25.—Esterilizador de vapor á la presión de 1 atmósfera.

reemplaza la cubierta protectora anterior, por una gruesa capa de fieltro ó de asbesto, que sirve de forro al cilindro metálico (de zinc ó latón) que constituye

la cámara del aparato. La tapadera, preferiblemente de forma abovedada para mayor firmeza, también está forrada del mismo modo. De esta suerte se reduce á

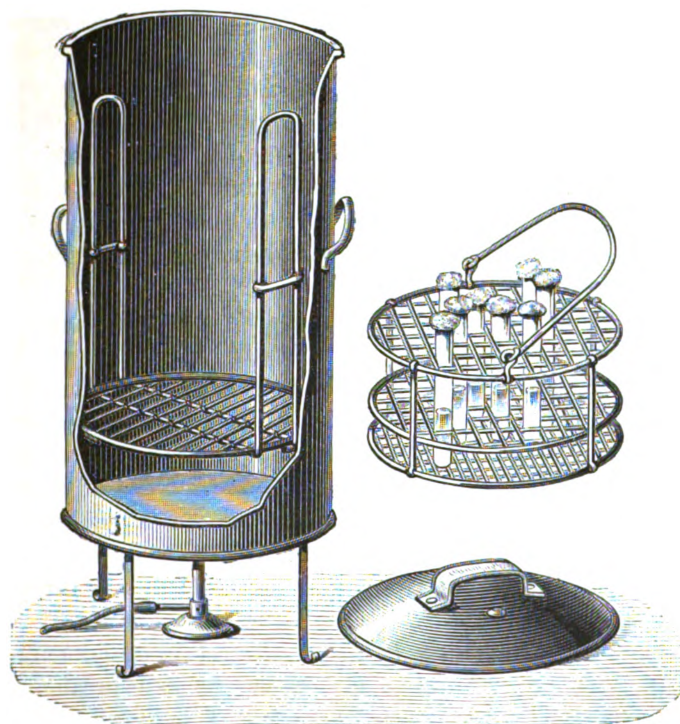


FIG. 26.—SIMPLE ESTERILIZADOR DE VAPOR PARA LA ESTERILIZACIÓN DISCONTINUA.*

su mínimo la pérdida de calor por radiación. El receptáculo para el agua, la cual se hace hervir por medio de un quemador de Bunsen ú otro foco adecuado, tiene

* KLEIN. *Micro-organisms and Disease.*

una llave de purga, de la que arranca un conducto acodillado en cuya rama vertical se intercala un trozo de tubo de vidrio para que sirva de indicador de nivel. La otra rama comunica con el interior del aparato á una altura cualquiera. Los tubos, frascos ú otros recipientes con líquidos listos para esterilizar, se introducen en el aparato, colocados dentro de un canastillo de alambre, ó de una vasija de metal delgado, y se someten durante media hora, más ó menos, á la acción del vapor. Como la tapadera no debe ajustar herméticamente, sino más bien quedar ligeramente suelta, el vapor puede escapar con facilidad por las junturas.

Diversas formas y dimensiones de aparatos pueden indicarse para esterilizar por medio del vapor de agua á la presión ordinaria. Simplificado como lo indica la Fig. 26, sin una cubierta aisladora, es evidente que no cumple con los requisitos necesarios para impedir la mucha pérdida de calor por radiación. Pero en todo caso, como la temperatura alcanzará por lo menos á 80 ó más grados en la parte menos caliente de la masa de vapor, siempre servirá como esterilizador, adoptando el método que sigue.

2. *Esterilización discontinua.*—Bajo esta designación abreviada se comprende el método de esterilizar los medios nutritivos por calentamientos, á menos de 100°, repetidos durante tres ó cuatro días.

El objeto principal de este procedimiento es no someter á muy alta temperatura aquellos medios líquidos, ó en otro estado, alterables por un fuerte calor; pero se comprende que pueda ser de uso más general, y que los caldos de que hemos tratado, que nada tienen que temer en ese sentido, sean también

susceptibles de esterilización por el método discontinuo.

El principio en que se funda es el siguiente: las *esporas* ó formas resistentes de ciertos microorganismos, sólo pierden su viabilidad ó poder de germinar, á 100° ó más en el vapor de agua, pero las células adultas que de ellas proceden no tienen tal resistencia y son destruidas en pocos minutos á temperaturas comprendidas entre 40° y 72°, según la especie; * por consiguiente, sometiendo á incubación adecuada un caldo no esterilizado, y transformadas las esporas en células ordinarias, es claro que por medio de incubaciones alternadas con esterilizaciones á poco más de 70°, el líquido acabará por quedar inmune de todo microbio ó germen de microbio.

En la práctica bastan tres ó cuatro días de tratamiento como el siguiente: recién preparados y guardados en sus recipientes los líquidos nutritivos por esterilizar, se someten por dos ó tres cuartos de hora, cuando más, á la acción del calor en cualquiera de los esterilizadores á vapor, sin preocuparse de que la temperatura alcance ó no á 100°, pero sí de que no baje de 70 á 80°. Después se les coloca en la estufa de incubación, mantenida entre 35 y 40°, por un día más ó menos, y se les vuelve á sacar para someterlos de nuevo á la esterilización parcial en la forma antedicha. Esto se repite tres ó cuatro veces.

Lo anterior se entiende aplicado á nuestro objeto particular, á la esterilización de medios nutritivos no alterables. De lo contrario habría que vigilar constan-

* El más tenaz de los organismos conocidos hasta aquí es el *bacillus thermophilus.* Véase: MIQUEL: *Monographie d'un bacille vivant au delà de* 70° *centigrades*—Annales de Micrographie, t. I., 1888, p. 3.

temente que el ó los termómetros del esterilizador no pasasen de 70 á 75°, ó, mejor, recurrir á un esterilizador especial, con regulador de temperatura.

3. *Esterilización en frío, por filtración á través de la porcelana.*—No trepidamos en recomendar este procedimiento de esterilización de los líquidos nutritivos como el más conveniente de todos.* Si es tan eficaz como cualquiera de los descritos, y sobre eficaz más sencillo, á parte de otras ventajas que se indicarán, entonces quedará justificada tal recomendación.

La teoría de la esterilización por medio de filtros de porcelana sin barnizar no puede ser más clara, como que no se trata de otra cosa que de un simple fenómeno de física molecular: el paso de las moléculas de un líquido á través de un diafragma poroso, y la retención por éste de todas las partículas sólidas por mínimas que sean. Lo único que sorprende á primera vista es que no puedan pasar los que tan acostumbrados estamos á llamar "infinitamente pequeños," allí pordonde pasan con toda facilidad hasta disoluciónes concentradas de las sales y otros cuerpos. Sin embargo, una lijera reflexión sobre lo que pueden ser los tamaños relativos

* Habiendo coincidido la introducción de los filtros Chamberland en Chile con la primera aparición del cólera (fines de Diciembre de 1887), así los introductores como numerosas personas solicitáronnos el estudio de la eficacia de los mencionados filtros. Esta circunstancia nos condujo, no solamente á los experimentos aislados de laboratorio que se indican para el objeto, sino que nos permitió extender la investigación á varios meses, con el fin principalmente de cerciorarnos de si la fastidiosa esterilización por el calor podría reemplazarse de un modo general y con ventajas, por el procedimiento que nos ocupa. Como todos los resultados obtenidos, sin escepción alguna, han sido favorablemente decisivos, á nuestro ver, de ahí la ninguna hesitación en recomendar sobre los demás este método de esterilizar los líquidos nutritivos empleados en la cultivación bacteriológica.

de los microbios más pequeños que se conocen, de las moléculas y de los poros de una sustancia compacta como la porcelana recocida á altas temperaturas, nos hace comprender al instante que lo verdaderamente sorprendente sería lo contrario.*

Como quiera que sea, el aparato que sirve en la práctica para esterilizar en frío, y bajo una presión más ó menos regular, los líquidos nutritivos, es el mismo conocido modelo de filtro Chamberland - Pasteur, no tan generalmente usado como debiera serlo, para la purificación definitiva del agua que bebemos. La fig. 27 represéntalo en sección longitudinal. He aquí su descripción :

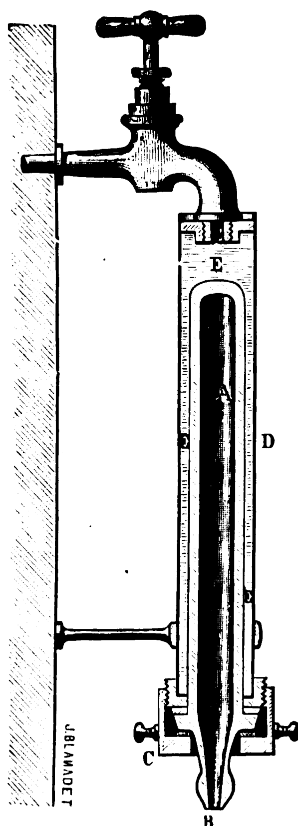


Fig. 27.—Filtro de porcelana recocida, modelo Chamberland. ($^1/_3$ del tamaño natural).

AB, cilindro ó bugía de porcelana recocida, sin barnizar, terminado inferiormente en un reborde y una prolongación que va angostando y acaba en forma de pezón. Toda esta parte es de porcelana vidriada.

* Sir William Thomson ("The Size of Atoms," Lecture before the Royal Institution of Great Britain, 3rd February, 1883, *Proc. R. I.*,

D, receptáculo cilíndrico de metal delgado, cuyo borde inferior tiene forma de tornillo.

C, tapa en forma de tuerca, para ajustar herméticamente el reborde de la bugía sobre el del cilindro. A cada lado del primero hay una golilla de goma, tanto para hacer más eficaz el ajuste como para evitar la ruptura de la bugía.

EE, espacio anular (del cual se expulsa previamente el aire) ocupado por el líquido que filtra á través de la porcelana con más ó menos rapidez, según sea la presión que reciba desde afuera.

La posición representada por la figura, es la del filtro unido á la cañería de agua del laboratorio. En esta forma utilízase el aparato, no sólo para obtener un agua perfectamente esterilizada para los usos bacteriológicos, sino también orgánicamente pura en cuanto á materias en suspensión. Por esta razón ya indicamos que debía preferírsela para la preparación del agua destilada. Agregaremos, por último, que cada cierto tiempo (lo que dependerá naturalmente del estado de filtración previa del agua que circula por la cañería) es necesario desmontar la bugía, frotarla con un cepillo áspero en una vasija con agua común, para que se desprenda la

Vol. X., p. 185) de acuerdo con experimentos basados en la teoría undulatoria de la luz, en los fenómenos de la electricidad de contacto, en la atracción capilar, y en la teoría kinética de los gases, deduce que el tamaño de los átomos ó moléculas de la materia ordinaria, líquida ó sólida, debe ser *menor* que 0·002μ, y *mayor* que 0·00001μ, ó sea al rededor de 0·001μ. Si tomamos en consideración una célula tan pequeña que mida solamente 1μ de diámetro, vemos que los volúmenes de la molécula y de la célula están entre sí como 1 : 1000000; y, por consiguiente, que los poros del filtro de porcelana recocida pueden ser incomparablemente más pequeños que los microbios, sin dejar de ser considerablemente mayores que las moléculas del líquido filtrado.

capa de limo que inevitablemente se forma sobre la porcelana, y finalmente pasarla por la llama de un quemador de Bunsen hasta destruir la materia orgánica que aún quede adherida. Esto en cuanto á las precauciones ordinarias, pues como regla de laboratorio respecto á todo utensilio destinado á estar en contacto con líquidos esterilizados, se debe además poner por dos ó tres horas en la estufa de aire caliente, ó bien por tiempo proporcionado en el autóclave, si es que se dispone de este aparato.

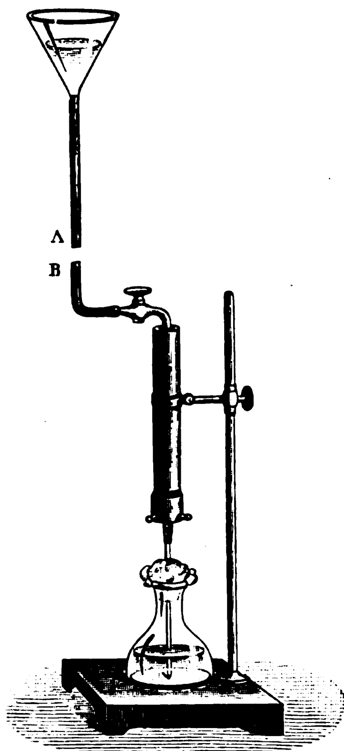


Fig. 28.—Filtración y esterilización simultánea, de los líquidos nutritivos, á la temperatura ordinaria.

Conocidos estos antecedentes del filtro de porcelana, describiremos las disposiciones en que conviene usarlo para la esterilización de los caldos, y los detalles anejos á esta operación.

La más sencilla de ellas (Fig. 28) consiste en aprovechar el propio peso del caldo que se esteriliza, en forma de presión hidrostática. Colocando el soporte del filtro en el suelo, y el embudo en un sostén anular sujeto á la pared, como á 3 metros de altura, se obtiene presión suficiente para filtrar y esterilizar simultáneamente los caldos, á razón

de dos ó tres litros lo menos por hora, siempre que se empleen bugías de las más porosas. (Pasta F.)

Lo anterior constituye la parte mecánica de la operación, pero aún quedan que describir algunos detalles, accesorios, así como ciertas precauciones que son de rigor. Los primeros se refieren al modo de recibir el caldo filtrado y libre de toda impureza, sin que haya el menor peligro de contaminación por los gérmenes del aire. Para esto, nada hemos encontrado tan eficaz como la cánula descrita mas atrás, empleada de preferencia en combinación con los tapones de Fol, también descritos en el mismo lugar. Estos tapones, si son convenientemente preparados, no ofrecen el menor género de dificultad en su manejo, á menos que la punta de la cánula sea imperfectamente hecha. La cabeza ó reborde superior de ésta se une al pezón del filtro por un pedazo de tubo de goma vulcanizada, de color negro. La de color rojo no sirve porque al calor de la estufa esterilizadora se reblandece, y la conexión se destruye. El tubo, que debe ser de paredes gruesas, pues el caucho se torna quebradizo y se agrieta exteriormente, resiste de sobra por lo menos una operación. La forma de recipiente más adecuada es la del frasco ó matraz que se ve en la misma figura; matraz achatado, de fondo plano y de capacidad de poco más de medio litro. (Se vende en las droguerías como recipiente para sublimar). La ventaja de esta forma consiste en que la cánula no necesita ser de longitud inconveniente para que su abertura alcance hasta el fondo del frasco, caso que se trate de la operación inversa de sacar líquido por el mismo medio, en vez de guardar.

Las precauciones que deben tomarse antes de empezar á filtrar se reducen á la esterilización conveniente

de la bugía y de la cánula, unidas ambas según se explicó más arriba. Se pone todo sencillamente en la estufa de aire caliente, á una temperatura que no baje de 150°, por dos ó tres horas. Para evitar que la pequeña abertura de la cánula llegue á obstruirse accidentalmente, se envuelve en la extremidad inferior de ella, y se amarra con un hilo, un pedazo de algodón. Esterilizada y fría la bugía, se adapta á su receptáculo, y se pasa por la llama la extremidad de la aguja (libre de la envoltura protectora que acabamos de indicar) en el mismo momento en que se va á introducir á través del tapón del recipiente. Es necesario, en seguida, cebar el filtro (del cual se ha sacado de antemano la llave), llenando con caldo la cavidad al rededor de la porcelana, con el fin de expulsar el aire; vuélvese á atornillar la llave, y se vierten poco á poco en el embudo nuevas cantidades de caldo. Éste no necesita tan cuidadosa filtración previa por papel, como cuando debe ser esterilizado por el calor; y, para completar su volumen después de las operaciones que preceden á la filtración, se le agrega agua común de la cañería, por muy rica en gérmenes que se considere. Por caluroso que sea el tiempo, no alcanza á trascurrir el suficiente para que el caldo entre en putrefacción, mientras se filtran varios litros; pero, si algo se temiese en tal sentido, por tratarse, p. ej., de un caldo no muy recientemente preparado, nada más fácil que detener toda alteración sensible, simplemente colocando el embudo en un refrigerador provisional.

El aparato que mejor llena el objeto buscado consiste en el mismo filtro anterior, salvo que en lugar de la llave tiene atornillado en la parte de arriba, un re-

cipiente metálico A (Fig 29), que forma un sólo cuerpo con el cilindro inferior. Dicho recipiente, que cualquier broncero puede fabricar, tiene en la parte superior dos aberturas, la una en comunicación con una llave y una manguera B, la otra consistente en una rosca, cuya tuerca D tiene forma de tapa. Por esta última se vacia el caldo. Después de lleno el tarro cilíndrico se

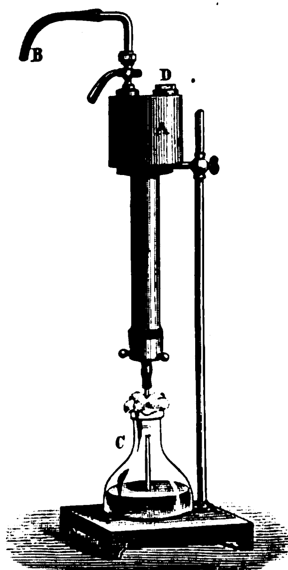


Fig. 29.—Filtro dispuesto para la filtración bajo presión de varias atmósferas.

atornilla fuertemente la tuerca, debajo de la cual hay una golilla de plomo ó de cuero, para hacer hermético el cierre. La otra abertura, por medio de la llave indicada y de la manguera B, se une á una bomba de mano ó á una máquina de compresión cualquiera.

Además de un aparato completo para la esterilización

de los líquidos á la temperatura ordinaria, Wiesnegg construye el sencillo aparato que se ve en la fig. 30.

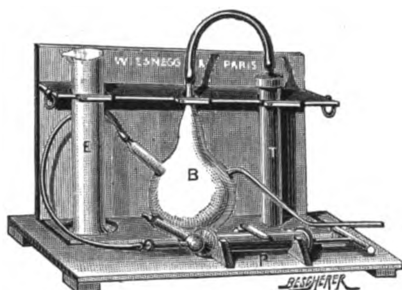


Fig. 30.—Nuevo filtro simple para la esterilización de los líquidos á la temperatura ordinaria.

El cual se compone de una bomba P, de una probeta E, con el líquido en filtración, en la cual se coloca la bugía T, unida por un tubo de caucho á un globo de tres cuellos B. Esterilizados en el autóclave á 120° la bugía, el tubo de caucho y el globo, enrarécese el aire por medio de la bomba: el líquido atraviesa la bugía filtrante y pasa al globo, dedonde se extrae retirando la bomba y quebrando la punta del tubo aguzado.

Para continuar la filtración, se cierra la punta á la lámpara, y se hace de nuevo el vacío.

El tubo que une la bomba al globo contiene una mota de algodón esterilizado que impide la penetración del aire impuro durante el trasiego del líquido.

En defecto de estos elementos puédese en último caso recurrir á la misma presión de la cañería de agua del laboratorio, si es que ella alcanza á más de dos atmósferas; con ese objeto basta comunicar la llave de la cañería con la manguera B (fig. 29), intercalando entre ambas un receptáculo estanco, de varios litros de

capacidad, mediante el cual, el aire comprimido y expulsado en parte por el agua, trasmite la presión al receptáculo D del filtro, y por consiguiente al caldo.

Usando tres ó cuatro atmósferas, la filtración sería demasiado rápida y pondría muy á prueba la bondad de una bugía tan porosa como la indicada en el caso anterior; por lo cual conviene, cuando se filtra á una presión relativamente considerable, apelar al empleo de una porcelana más dura y compacta (Pasta B).

De todas maneras, si la operación se lleva á cabo con estricta sujeción á las reglas señaladas, el líquido resultante no solamente será de transparencia de cristal, inalterable con el tiempo, sino tan perfectamente esterilizado como puede serlo un medio nutritivo, desde el punto de vista bacteriológico. En una serie de esterilizaciones por filtración llevadas á cabo principalmente con el fin que expusimos, desde enero á abril de 1887, cada grupo de seis ó más matraces era sometido á la prueba de reglamento en la estufa de incubación mantenida entre 35 y 40°. Después de dos ó tres semanas se les sacaba indemnes, y el caldo se empleaba en las necesidades del laboratorio, ó se guardaba en los mismos frascos para probar la acción del tiempo. Nunca se perdió uno solo. Periódicamente eran sacrificados algunos matraces, ya fuese retirando momentáneamente los tapones, ya rozando la superficie del líquido con una varilla cualquiera, sin tomar la precaución de hacerla aséptica; antes de 24 horas de incubación en la estufa, el líquido nutritivo se volvía turbio, y examinado bajo el microscopio, revelaba variedad de especies microbianas. Luego, la inalterabilidad de los caldos no podía deberse á antisepsia accidental ó á falta de sensibilidad. En

enero de 1889, los últimos frascos restantes de esa serie, se conservan inalterables en todo sentido. La ninguna ó escasamente apreciable disminución de nivel después de casi dos años de guarda, prueba por otra parte, que los tapones, así los ordinarios como los de Fol, son tan eficaces para impedir el acceso de todo germen al interior, como para evitar la evaporación del líquido.

Preparación de las jaleas.—De los diversos medios nutritivos de consistencia semisólida y transparentes, destinados á aislar y á cultivar los microorganismos, ninguno más á propósito que las jaleas con base de gelatina y fecundizadas con peptonas y pequeños proporciones de otros productos necesarios á la nutrición y mejor crecimiento de las células. Decir esto equivale á incluir en el número de dichos medios los caldos cuya preparación acabamos de describir, siempre que por la agregación de cierta cantidad de gelatina, se les comunique la propiedad de cuajar ó de adquirir consistencia de jalea á la temperatura ordinaria. Por desgracia, cualquiera que sea el procedimento que se adopte para esterilizar por el calor estas jaletinas,* el hecho es que se hacen demasiado fusibles por el tratamiento, llegando á resistir apenas 22 á 24° en lugar de 28°, que es la temperatura á que se funden cuando se preparan, sin esterilizarlas, á un suave grado de calor.

La elección de la gelatina es punto que debe considerarse con atención, por cuanto se trata de un producto no definido cuyos componentes principales, la *condrina* (derivada de cartílago blando) y la *glutina* (derivada de cartílago duro) entran en proporciones

* Emplearemos el término "jaletina" simplemente con el significado de jalea con base de gelatina, ó el de "gelatina nutritiva".

variables. La gelatina más rica en glutina es la más dura. Es muy fácil encontrarla en el comercio, porque actualmente se fabrica en grande escala para usos fotográficos; por ejemplo la de Coignet, la de Simeons (de Winterthur), etc. Como regla, no debe emplearse sino gelatina dura de la mejor calidad.

1. *Jaletina de caldo, ó caldo gelatinado.*—Cualquiera de los tres caldos cuya preparación se ha descrito, puede servir de vehículo á la gelatina para obtener un medio ó terreno de cultivo transparente y dotado de la consistencia y principios nutricios necesarios. Sólo que, en vez de echar mano de caldos ya definitivamente esterilizados y sometidos á la prueba de la incubación, es más económicamente ventajoso hacer la adición de gelatina á los caldos en vía de preparación.

La proporción de gelatina varía con su calidad, ó más bien con su grado de dureza, puesto que la calidad debe ser siempre la mejor. Puede adoptarse al rededor de un 5 á 6% para las de mayor consistencia, y de un 10% para las más blandas, como por ejemplo la de Nelson No. 1. Con estas es inútil pasar de la proporción indicada porque no se logra más alto punto de fusión; y en cuanto á las primeras, mayor cantidad produce jaletinas que guardadas en tubos cerrados simplemente con algodón, vanse endureciendo lentamente en la superficie, por la pérdida de agua, formando con el tiempo en cada tubo una depresión ó concavidad que los inutiliza para siembras por inoculación, por que al hundir el alambre de platino, rásgase la capa contraída, y con ella el resto de la masa gelatinosa.

De todos modos, el mejor sistema de preparación es poner á remojar previamente en frío la gelatina en un poco del caldo á que se va á incorporar. Puede usarse

al efecto la misma vasija que servirá para el resto de las operaciones que hay antes de filtrar definitivamente la jalea y dejarla lista para la esterilización. En seguida se coloca la vasija en baño de maría, se agrega el resto del caldo, y se revuelve la mezcla, hasta obtener la disolución ó más bien dicho, incorporación uniforme de toda la gelatina con el líquido.

Se clarifica la mezcla algo turbia que resulta, sobre todo con gelatina opaca, agregándole una ó más claras de huevo previamente diluidas en caldo frío, y elevando la temperatura hasta más de 70° para que se coagule la albúmina, y arrastre las partículas que producen la turbiedad. Antes de que se produzca la coagulación, es necesario revolver constantemente el líquido. Muchas veces basta colar la mezcla así clarificada, á través de dos ó más dobleces de franela de lana muy tupida, para obtener jaletinas tan transparentes como no se puede exigir más para los usos ordinarios del laboratorio; y á fe que bien vale la pena de conseguirlas por un medio tan simple, y de ahorrarse si es posible la lenta y fastidiosa tarea de la filtración. Pero la única gelatina con que hemos logrado este resultado, la de Nelson No. 1, tiene el grave inconveniente de ser demasiado blanda, de suerte que aun empleada á 10% prduce jaleas que apenas resisten 20°.

La operación de filtrar el caldo gelatinado, y ya clarificado en mucha parte por el procedimiento que se acaba de indicar, hay que hacerla al calor, pues de lo contrario pasa con suma dificultad por el doble filtro de papel que es menester emplear. El aparato más sencillo para ese objeto consta de un embudo de vidrio ó porcelana, rodeado por otro de lata ó zinc, de mayor tamaño, y de cuello suficientemente corto y ancho

para que el del embudo interior lo pueda atravesar, sobrepasándolo en algunos centímetros; se ajusta un cuello al otro, herméticamente, por medio de un pedazo de tubo de caucho, de diámetro adecuado; la cavidad que queda entre ambos embudos se llena con agua caliente, la que se mantiene en este estado (50 á 60°) por medio de una lámpara de gas ó de espíritu que se coloca en uno soporte lateral.

El aparato, fig. 31, es mucho más acabado que el de

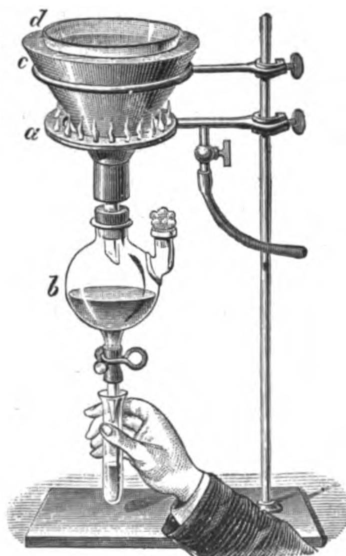


Fig. 31.—Filtración y guarda de la gelatina nutritiva.

la descripción anterior, y suficientemente claro para necesitar descripción especial. Lo único que la necesita es el anexo en forma de globo (*b*) de triple cuello; su objeto es servir de receptáculo provisional á

la jaletina que filtra poco á poco. Así, la operación de trasegarla á los tubos ú otros recipientes en que se va á esterilizar y guardar definitivamente, se hace con mucha más comodidad y limpieza. Limpieza, sobre todo, porque nada es más fácil que chorrear el borde del tubo inadvertidamente y colocar en seguida el tapón de algodón. Los inconvenientes de cosa al parecer tan insignificante, sólo vienen á reconocerse cuando, ocupadas ambas manos en medio de una siembra que requiere atención múltiple, y olvidada la precaución usual de repasar los tapones de toda los tubos que se van á emplear, resulta en el momento más inoportuno que uno de ellos está firmemente adherido al vidrio.

Terminada la filtración, resta esterilizar la jaletina en los mismos tubos ú utros recipientes en que se haya recogido. El mejor sistema es el de la esterilización discontinua, aplicado exactamente como se dijo para los caldos; sino que, para con éstos, es de ninguna importancia que la temperatura pase mucho de lo que se considera necesario, entanto que para las jaletinas cualquier exceso, sea en el tiempo, sea en el grado de calor á que se someten durante los tres ó cuatro días que tarda la esterilización, es con mengua de su resistencia á la fusión.

Si se adopta el sistema de la marmita de Fol, tanto para la esterilización rápida, á más de 100°, como para de la misma marmita trasegar el fluido gelatinoso, se gana en tiempo, es cierto, pero con mayor razón, por causa de lo elevado de la temperatura, se presenta el inconveniente señalado. Además, resulta que después de clarificado el líquido por medio de la albúmina á los 70 ú 80°, se produce en la marmita, entre los 100 y los

110° una nueva precipitación de compuestos albuminóideos, que aunque en pequeña cantidad bastan para obstruir la cánula ó ensuciar la jaletina con infinidad de particulas que no alcanzan á aconcharse del todo en el fondo de los tubos durante el enfriamiento.

La misma observación que hicimos con respecto á los caldos es aplicable á la jelatina nutritiva: tanto para obtener un producto de composición uniforme, como para ahorrarse los inconvenientes de una operación que en grande como en pequeña escala cuesta casi el mismo trabajo, lo mejor es preparar de una vez una buena cantidad del producto. Hay que tener en cuenta, además, que durante mucho tiempo queda inmovilizada parte de los medios nutritivos, mientras pasan por la prueba que permite decir que no hay gérmenes viables en ellos.

2. *Jaletina colorada de Noegerath.*—Recientemente* se ha dado á conocer un procedimiento de coloración de los medios nutritivos, con el fin de facilitar el diagnóstico de las especies, en vista de las reacciones particulares que los cultivos hechos en tales medios puedan ofrecer. Aunque probablemente no es sino el primer paso en una nueva vía de investigación, el procedimiento de los cultivos colorados presenta ya su utilidad en la práctica. Por ejemplo, á las dos reacciones de cultivo que se conocen del bacilo tífico, y que ayudan el esclarecimiento de su carácter diferencial, se ha agregado la que presenta en la gelatina nutritiva teñida con colores de anilina.† En este sentido nos ha

* Fortschritte der Medicin, t. VI., 1888, p. 1; y Annales de l'Institut Pasteur, t. II., 1888, p. 105.

† Grancher et Deschamps: "Recherches sur le bacile typhique dans le sol." *Arch. de Méd. Expér.*, t. I., 1889, p. 39.

parecido útil describir la preparación de dicha gelatina.

Se hace primero la siguiente mezcla, tomando los colores en el orden indicado:

Disolución acuosa	saturada	de azul de metileno, .	2 cc.
,,	,,	de morado de genciana,	2 cc.
,,	,,	de verde de metilo, .	2 cc.
,,	,,	de crisoidina, . .	2 cc.
,,	,,	de fucsina, . .	2 cc.

Se agrega á todo agua destilada hasta completar 200 cc. El líquido así obtenido debe presentar un color moreno, ligeramente violáceo, y teñir más ó menos con este tinte el papel de filtro. Se deja reposar 15 dias y, si al cabo de este tiempo, cosa que sucede de ordinario, su color ha variado algo, se corrige la variación en esta forma: si el líquido se ha puesto rojizo se le agrega un poco de verde y de morado; si muy verde, se le agrega rojo y un poco de morado; si es el tinte azul ó el morado el dominante, se agrega entonces un poco de crisoidina. El objeto es conseguir una coloración indefinida.

La gelatina nutritiva se tiñe agregando de 7 á 10 gotas de la disolución por cada 10 cc., hasta que la mezcla empieze á perder su transparencia.

3. *Jaletina esterilizada por filtración.*—Las jaletinas esterilizadas por el calor, aún empleando la temperatura relativamente baja de la esterilización discontinua, se funden con facilidad entre 20 y 22°, según sea la proporción y la dureza de las gelatinas que hayan entrado en su preparación. Llegan á adquirir una resistencia de uno á dos grados más, cuando se han guardado durante mucho tiempo en tubos simplemente

cerrados por tapones de algodón, sin el casquete de goma. Esto lo hemos notado principalmente en el caso de la gelatina de Nelson No. 1, cuya jalea recién preparada se funde á 20 ó 21° después de esterilización en la marmita, pero que al cabo de algunos meses de guardada en la forma antedicha resiste perfectamente 22 á 23°. Como todavía es esta una temperatura inferior á la predominante en el verano, resulta que los cultivos hechos en tal medio nutritivo están expuestos á perderse en un momento dado si se sustraen, aunque sea por poco tiempo, á la atmósfera refrigerante en que deben mantenerse. Para obtener una jaletina que no posea estos inconvenientes, hay que esterilizarla por filtración, valiéndose del mismo aparato usado para los caldos: un filtro de porcelana, con un fuerte receptáculo en la parte superior, comunicado con una bomba ó máquina de compresión. Para esto se requiere, eso sí, una bugía de las menos compactas, la presión de tres á cuatro atmósferas, y la precaución de enrollar un tubo de caucho, por el cual se hace pasar una corriente de vapor, al rededor de la cubierta metálica del filtro. El líquido no debe tener más de 4 á 5% de buena gelatina dura, ni la temperatura pasar de 40 á 50° durante todo el curso de las operaciones. El producto filtrado se puede concentrar después en el vacío, si se ha empleado una proporción algo débil de gelatina con el fin de facilitar la filtración. Al decir vacío nos referimos á un espacio rarificado en el cual se colocan sustancias que absorban la humedad, cosa fácil de obtener en los laboratorios. El procedimiento es largo, algo complicado si se quiere, y poco rendidor; pero en cambio se obtienen jaletinas de una transparencia de cristal, perfectamente esterilizadas y que resisten sin

fundirse de 27 á 28°. El poco rendimiento procede de que después de filtrados unos 80 á 100 cc., la porcelana empieza á filtrar con dificultad, y hay que suspender la operación, y reemplazar la bugía por otra que se tenga lista con su respectiva cánula. El empleo de ésta es necesario; así solamente se consigue que durante todo el tiempo la gelatina que cae gota á gota en el tubo, quede al abrigo de contaminación, pues el tapón de algodón no se retira un momento de su lugar.

4. *Jalea de agar-agar.*—La jaletina anterior, á causa de la relativa dificultad de su preparación, no podría adoptarse como medio nutritivo sólido de uso constante, sobre todo en las numerosas siembras que tienen por objeto principal determinar la proporción de bacterias que encierran las aguas. Su uso se halla, más bien, relacionado con investigaciones de carácter cualitativo, *v. gr.*, para estudiar á una temperatura más adecuada á la vida y multiplicación de las células, ciertas especies que crecen mal, tardando en exhibir colonias bien desarrolladas, en la gelatina nutritiva ordinaria, que en la práctica no puede mantenerse, sin riesgo de fusión, sino á poco más de 20°. Pero el medio de consistencia semisólida más conveniente para el fin indicado, esto es permitir una incubación á la temperatura óptima, que oscila entre 30 y 40° para la mayoría de las bacterias, es hasta aquí la jalea de *agar-agar* ó *gelosa*, la cual ofrece además la inapreciable ventaja de no liquidarse como la gelatina, bajo la acción de ciertas especies.

Se prepara esta jalea disolviendo al calor el agar-agar (de preferencia á 110° en la marmita), en la proporción de 10 á 20 gramos por litro de líquido nutritivo,—por ejemplo, caldo peptonizado; en seguida, en

vez de recurrir á la filtración para clarificarla, se echa la disolución turbia y caliente en largas probetas cilíndricas que se dejan durante doce horas en la atmósfera saturada de vapor de agua del esterilizador de vapor, á fin de conseguir la sedimentación lenta de los copos de precipitados; por último, si en estado líquido, se decanta el agar-agar, y si no se saca la masa cilíndrica solidificada, separándola de la parte que contiene el depósito. Esta jalea se esteriliza, después, por el calor recurriendo á cualquiera de los medios conocidos; es perfectamente transparente, y solo se funde de 38 á 40°; pero las colonias de bacterias no exhiben en ella reacciones tan características como en la gelatina.

Basta agregar antes de la esterilización al agar-agar preparado como se ha dicho, ó por cualquier otro procedimiento, 6 á 8% de glicerina para obtener el terreno más á propósito para el cultivo artificial del bacilo de la tuberculosis.*

Preparación y esterilización de las papas.—Este es el único medio sólido que actualmente tiene aplicación en los cultivos que es necesario hacer para el estudio de las aguas. Su importancia es muy grande en este sentido, porque hasta aquí no se conoce reacción más característica para establecer el diagnóstico del bacilo de la fiebre tifoidea, ó de Eberth, que el aspecto de su cultivo en papa.

La papa más á propósito para el objeto es aquella que presenta menos irregularidades en su superficie, y que por la cocción no se vuelve harinosa y deleznable. Lo primero es necesario para facilitar la limpia y esteriliza-

* NOCARD Y ROUX. *Sur la culture du bacile de la tuberculose.* [*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. I., 1887, p. 23.]

ción previa de la cáscara por medio de un antiséptico, con el fin de eliminar los numerosos gérmenes, entre ellos esporas muy resistentes, que existen en el suelo, dedonde procede el tubérculo ; lo segundo también es menester, porque de otro modo es muy dificil partir con regularidad la papa, y obtener una superficie unida, ligeramente húmeda, y sin granulaciones que hagan destacarse menos típicamente el aspecto del cultivo. Las papas nuevas, de cáscara tierna, y más bien un tanto aguanosas son las mejores. Antes de cocerlas y esterilizarlas á la vez, se lavan primero en agua, restregándolas con un trapo áspero, ó mejor con un cepillo, y después se hace lo mismo durante algunos minutos reemplazando el agua por una disolución al 2 por mil de bicloruro de mercurio ; ó para más seguridad, aún, se dejan sumergidas en esta disolución por una media hora. Después se enjuagan con agua limpia, común, y se ponen en el esterilizador de vapor á 100°, dejándolas allí de tres cuartos á una hora.

La operación de partirlas y de guardarlas bajo campanas ó en receptáculos esterilizados requiere ciertas precauciones. Se espera que la temperatura baje lo suficiente á fin de tomar las papas sin incomodidad entre los dedos de la mano isquierda, previamente lavados con la disolución de bicloruro y todavía húmedos con ella, y en seguida se parte, como se ve en la fig. 32, con un cuchillo que se acaba de esterilizar á la lámpara. Si hay varias papas que cortar, lo mejor es tener sendos cuchillos, para evitar la pérdida de tiempo que acarrea la limpia de la hoja de acero, la cual se llena de partículas que se adhieren firmemente al metal en los pocos momentos que tardan en secarse.

Más rápido y seguro es el procedimiento de cortar

las papas con un alambre de platino, cuya limpia por medio de un trapo húmedo, y esterilización por medio



Fig. 32.—Modo de cortar las papas recién esterilizadas por el calor.

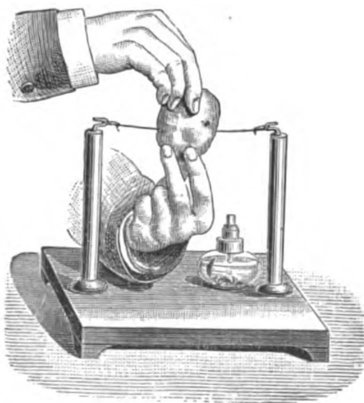


Fig. 33.—Modo de cortar las mismas con un alambre de platino.

de una lámpara de espíritu de vino, es cuestión de segundos cada vez (Fig. 33). El corte es perfecto, y la operación de cortar sencillísima.

Como es indispensable precaver la papa de toda contaminación, acto continuo de haberla cortado se deben colocar las porciones resultantes en un recep-

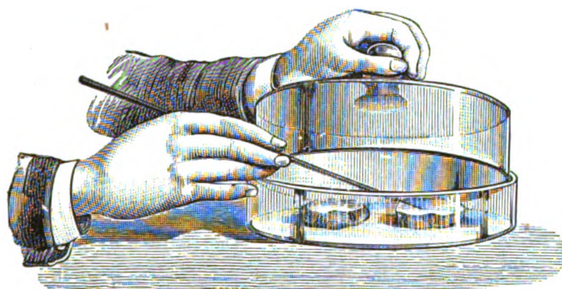


Fig 34.—Cámara húmeda común á varios cultivos en papas.

táculo á propósito. Preferimos receptáculos independientes para cada una, pues así el manejo de los cultivos es más fácil, y al tener que hacer el examen

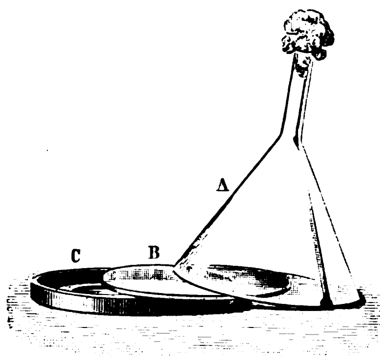


Fig. 35.—Pequeña cámara húmeda, adaptable á los cultivos en papa ó en jaletina.

aislado de uno de ellos, no se exponen inútilmente los otros á infección por gérmenes del aire, como lo indica la fig. 34. La sencilla combinación representada por la

fig. 35 realiza perfectamente ese desideratum. Consta de un disco de vidrio B, como de diez centímetros de diámetro, de un embudo A, del mismo diámetro inferior, y de un soporte anular C, hecho de una pieza de latón delgado y sin soldaduras. Los bordes del embudo se desgastan, en unos cuantos minutos, frotándolos sobre una loza con una pasta de esmeril y aguarrás. El ajuste del embudo sobre la plancha de vidrio resulta perfecto, y no hay la menor comunicación con el aire exterior sino á través del tapón de algodón que se coloca en la parte de arriba de esta cámara húmeda improvisada. No se levanta la cubierta de uno de estos receptáculos previamente esterilizados, sino en el momento mismo de introducir en él una sección de la papa, que se tiene entre manos, recién cortada. El vapor de agua que se condensa en el interior después de la introducción de la papa húmeda y caliente, sirve para mantener saturado el aire del receptáculo por largo tiempo. Las papas preparadas y guardadas cual queda dicho, se colocan, por último, en la estufa de prueba por algunos días. Si por causa de mal ajuste en el cierre se notasen tendencias á la sequedad, se levanta el embudo y se introduce debajo de él un rollito de papel de filtro mojado en disolución de bicloruro de mercurio.

Esta misma cámara húmeda sirve para los cultivos en gelatina nutritiva, según se explica en el capítulo siguiente.

Otro medio de preparar y de conservar las papas, consiste en cortarlas crudas, en trozos alargados, de forma y tamaño convenientes, para que quepan dentro de tubos de ensaye como los que sirven para la gelatina. Con el objeto de que los trozos no se vayan muy al

fondo de los tubos, así como para recoger la humedad excesiva que pudiese resultar, introdúcese antes en cada uno de los últimos cierta cantidad de algodón.

Cargados de esta manera (Fig. 36) se colocan los tubos por una hora más ó menos en el esterilizador de vapor á 100°, ó por 15 minutos en el autóclave á 115°.



Fig. 36.—PAPA ESTERILIZADA EN TUBO DE ENSAYE.

C. *Siembra, incubación y aislamiento de los gérmenes.*

Los detalles relativos, á la manera de hacer una siembra y al aislamiento de los gérmenes por ese medio, son de más immediata oportunidad y aplicación al describir más adelante cómo se analiza bacteriológicamente un agua, tanto con el fin de averiguar el número de esos gérmenes como para determinar su especie.

Según sean líquidos, gelatinosos ó sólidos los medios nutritivos empleados, así varía también la manera de llevar á buen término esas operaciones.

Con respecto al mero aislamiento, el principio general en que se basa es el siguiente: *dilución del excipiente que contenga los gérmenes, y siembra de la dilución en un mismo medio nutritivo.* Este puede ser permanentemente líquido como los caldos, ó gozar de la propiedad de ser alternativamente fluido ó consistente, como las jaleas. Necesítase en el primer caso de un material especial para cada parte de la operación; basta, por lo general, en el segundo aprovechar esa doble propiedad

de las jaleas para hacer primero en éstas, cuando fluidas, la dilución, y obtener en seguida, cuando solidificadas, el fraccionamiento, sin necesidad de subdivisión del medio nutritivo.

El método general de los caldos es el mismo que se describe en el capítulo siguiente, aplicado al análisis de las aguas. En cuanto al de la gelatina, como allí se da con algunas variantes, creemos necesario exponerlo aquí en su forma original, tal como se usa en todo caso en que se trata de aislar los microorganismos, sin subordinar la operación á la cuenta de ellos.

Se funden á suave calor tres ó cuatro tubos, cada uno con 10 á 15 cc. de jaletina; se inocula el *primero* con una pequeña cantidad del sólido ó líquido cuyos gérmenes, desconocidos en número y en calidad, se quieren aislar; una gota ó fracción de centímetro cúbico del anterior, después de bien revuelta la jaletina con el material agregado, se agrega al *segundo* tubo; otro tanto se hace con el segundo respecto á la gelatina del *tercero*; etc. Por ejemplo:

DILUCIONES.

No. 1.	No. 2.	No. 3.
10 cc. Gelatina.	10 cc. Gelatina.	10 cc. Gelatina.
Suponiendo que después de inoculada resulte esta primera dilución con, más ó menos, 2000 gérmenes (capaces de brotar) por centímetro cúbico; agregando $\frac{1}{2}$ cc. á la No. 2,	resultará esta con más ó menos $\frac{2000}{20} =$ 100 gérmenes. Agregando $\frac{1}{2}$ cc. de esta 2ª dilución a la 3ª	resultará esta más ó menos con $\frac{100}{20} = 5$ gérmenes por cada centímetro cúbico· etc.

Extendiendo la gelatina en capa como de 2 milímetros de espesor, la densidad de cada plancha de cultivo, con respecto al número de colonias, sería para la

Dilución	No. 1—400	colonias	por	centímetro	cuadrado.
,,	No. 2— 20	,,	,,	,,	,,
,,	No. 3— 1	colonia	,,	,,	,,

Como se ve, hay ancho margen para obtener la densidad mas conveniente, ya sea aumentando el número de diluciones, ya variando la cantidad de gelatina que se toma para hacer la inoculación de un tubo á otro.

Lo que falta hacer, después de vaciada la jalea sobre planchas de vidrio, cubetas ú otros receptáculos; ó simplemente después de haberla extendido en capa delgada dentro de los mismos tubos (método de Esmarch), es someterla á incubación conveniente.

Requiérense al efecto aparatos especiales, en que se puedan mantener las siembras á temperatura adecuada y lo más uniforme posible, durante todo el tiempo que dure la incubación, ó el que se crea necesario después de obtenidos los cultivos. Este requisito se aplica no solamente á las siembras en gelatina nutritiva sino también, á las en agar-agar, papas, etc.

Por temperatura adecuada hay que comprender la que más conviene á las especies bacterianas para su crecimiento, y la que permiten, sin fundirse, las jaleas con base de gelatina. Ya hemos dicho que estas soportan apenas 22 á 24°. En cuanto al grado de calor más favorable á las bacterias, sin hacer distinción particular de especies, puede decirse que se avecina á la del cuerpo humano. A lo menos los organismos que

nos interesa estudiar de un modo particular, como ser el bacilo tífico, el espirilo del cólera asiático, etc., se hallan en este caso.

Resulta de lo expuesto que es menester recurrir al empleo de elementos y de aparatos especiales para conservar los cultivos en las condiciones de temperatura dependientes de esa doble consideración. Para mayor claridad, separaremos los dos casos generales que se presentan en la práctica, á saber: (1) Cultivos á la temperatura ordinaria variable; y (2) Cultivos á temperatura fija superior á la ordinaria.

1. *Cultivos á la temperatura ordinaria.*—Dentro de los límites de temperatura de climas no muy excesivos, entre 10° y 30°, por ejemplo, la mayor parte de las especies microbianas crecen con mayor ó menor exhuberancia en un medio nutritivo adecuado; y de este modo es fácil estudiarlas en sus cultivos puros, cuando el objeto de ese estudio no implica regularidad de condiciones. Pero, aún aceptado esto último, hay casos en que el cultivo á la temperatura ordinaria, es decir la comprendida entre aquellos extremos que hemos apuntado, tiene su limitación, tanto en el sentido del mínimum como del máximum de los grados de calor aprovechables, á causa de circunstancias dependientes de la naturaleza del microbio cultivado y de la del medio de cultivo. Por ejemplo, los cultivos en jaletina, de colonias del *spirillum choleræ asiaticæ*, no son compatibles con una temperatura inferior á 16° (Koch), punto en que cesa todo desarrollo del microbio; ni superior á 24°, máxima resistencia á la fusión de las jaletinas esterilizadas por el calor. Sábese prácticamente, que aún sin estufas especiales no es difícil preservar semejantes cultivos dentro de una tempera-

tura media, siendo de poca monta las fluctuaciones, si el único objeto es observar el crecimiento de las colonias, ú otra investigación sin carácter comparativo.

En el caso que la temperatura del ambiente sea más elevada que el punto de fusión de la jalea, es generalmente suficiente preservativo poner los cultivos dentro de un armario ó caja de dobles paredes, por entre las cuales pueda circular agua de la cañería del laboratorio; ó, en defecto de este recurso, apelar al enfriamiento en la forma y condiciones que se indican en el capítulo siguiente; ó bien, simplemente, poner los tubos ó planchas de cultivo dentro de una caja metálica sencilla, colocada sobre una vasija con un poco de agua en el fondo, y teniendo la precaución de recubrir la caja con un trapo mojado, cuyos bordes toquen el agua, á fin de que por capilaridad suba la misma y reemplace la perdida por la evaporación, fenómeno este, causa del enfriamiento, y que puede hacerse más intenso poniendo el aparato en una corriente de aire. Un termómetro que atraviese la tapa de la caja, indicará la temperatura interna, siempre menor en algunos grados que la del ambiente.

Ahora, cuando el grado de temperatura de éste empieza á ser demasiado bajo para el desarrollo conveniente de los cultivos, lo mejor es no recurrir á medidas provisionales para remediar el mal, si sólo es pasagero, limitándose á aguardar que la temperatura suba; pero si el descenso es persistente, y lo que se busca es provocar el crecimiento de los cultivos, entonces no hay sino que echar mano del procedimiento más correcto de las estufas calentadas á temperatura uniforme, como las que van á describirse á continuación.

2. *Cultivos á temperaturas fijas superiores á la ordinaria.*—Exigen el empleo de *estufas de cultivo*, que se diferencian de las de esterilización ya descritas, no solamente en que necesitan un foco calorífico de intensidad mucho menor, sino también regulación indispensable y constante de ese foco, á fin de que la temperatura interna en toda estufa varíe apenas, dentro de límites muy estrechos. Preciso es advertir con respecto á tal condición, que no es posible lograrla, por perfecto que sea el principio de la regulación y acabada la construcción de la estufa, si no se adoptan conjuntamente precauciones generales, para reducir en cuanto sea posible las fluctuaciones de temperatura del lugar en que se tenga funcionando el aparato. Todo sitio en que hayan corrientes de aire, en que dé el sol, ó en fin expuestos por cualquier motivo á variaciones de la naturaleza antedicha, es completamente impropio para colocar una estufa de cultivo, y no debe escogerse sino á falta de otro más conveniente.

El más perfecto, como uniformidad de temperatura, de los aparatos destinados á la incubación bacteriológica, es el conocido de D'Arsonval, sensible hasta $\frac{1}{10}$ de grado, en las mejores condiciones de regulación. Tamaña precisión no es necesaria, ni con mucho, para un estudio que se reduzca al cultivo de los gérmenes para su cuenta ó su determinación específica. Sin embargo, como el principio de regulación de temperatura de este aparato es el que corresponde mejor al fin apetecido, damos á más del modelo de la estufa perfeccionada construida al presente por Wiesnegg (Fig. 37) un diagrama explicativo de la regulación.

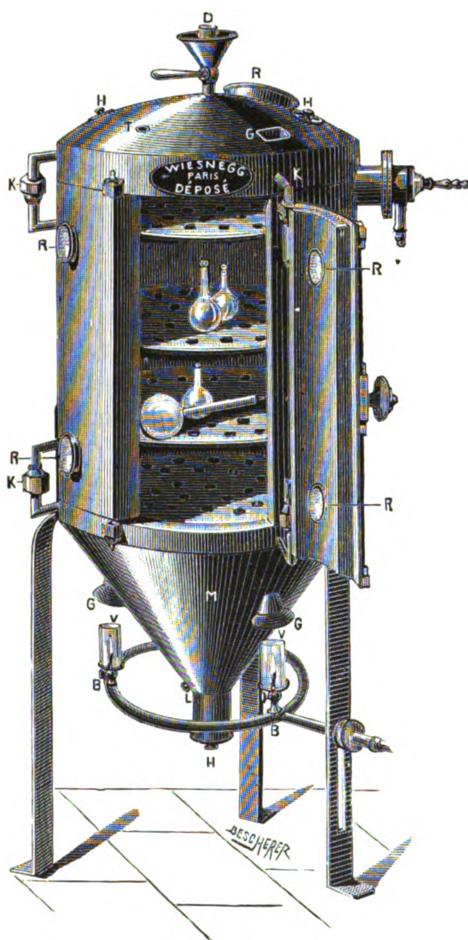


Fig. 37.—ESTUFA DE CULTIVOS DE D'ARSONVAL.

KKK, tubos que establecen comunicación entre el agua de la estufa y la de las puertas.—RRRR, ventanillas de observación.—D, abertura por donde se llenan de agua las paredes huecas de la

estufa.—HHH, ventiladores.—BB, quemadores de gas.—VV, cilindros protectores de las llamas.—GGG, chimeneas de calefacción, que atraviesan la capa de agua.—L, tapón del desagüe.—T, cavidad para el termómetro.

La figura descrita corresponde al modelo más completo, con dos puertas, de las cuales una no se ve por estar del lado opuesto.*

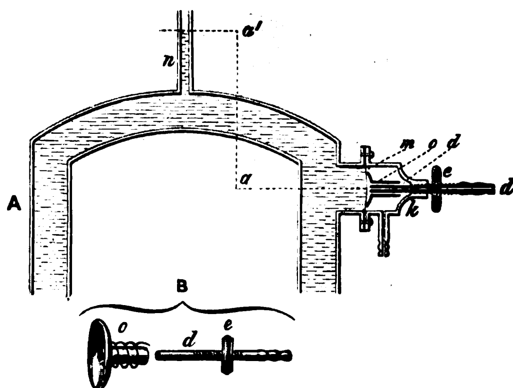


Fig. 38.—Diagrama explicativo del regulador de temperatura de D'Arsonval.

A, sección del compartimento anular de la estufa, formado por dos cilindros concéntricos de cobre. Este compartimento se llena completamente de agua privada de gases, hasta alcanzar cierta altura en el tubo de vidrio *n*, que se ajusta por medio de un pedazo de tubo de goma á la abertura D (Fig. 37).

m, membrana ó diafragma de goma elástica, mantenida tensa entre dos anillos.

o, obturador mantenido constantemente contra la membrana, cuyos novimientos sigue, por medio de un resorte en espiral que lo contornea, y se apoya, por el lado opuesto al de la membrana, contra la tapa *k* del regulador.

dd, cañon de entrada del gas, que se puede acercar más ó menos

* Precio de la estufa, pequeño modelo, con una sola puerta: f. 190.

á la membrana y fijar exactamente en la posición deseada mediante la tuerca *e*. La cantidad de gas que puede entrar depende de la posición del obturador: si la temperatura del aparato tiende á aumentar, el agua se dilata, crece la altura de la columna líquida *aa'* que ejerce presión sobre la membrana y por consiguiente sobre el obturador, éste cierra en proporción el paso del gas y el tamaño de las llamas disminuye; si, por el contrario, la temperatura tiende á bajar, el fenómeno inverso al descrito se verifica.

B, detalles del regulador.

La explicación anterior basta para comprender cómo se puede iniciar la marcha del aparato á una temperatura dada, y de qué modo después de unas cuantas oscilaciones se consigue un régimen satisfactorio de equilibrio, modificando en uno ú otro sentido, ya sea la cantidad de gas que entre al tubo *dd*, antes de la regulación, ya la altura de la columna *aa'*, etc.

Pero todas las precauciones resultarían poco menos que inútiles para lograr una regulación perfecta de la temperatura en una estufa cualquiera, si no se contase con una presión medianamente uniforme del gas de la cañería. En nuestras ciudades la diferencia de presión es considerable entre el día y la noche, de suerte que ni la estufa de D'Arsonval, ni menos cualquiera otra podrían usarse satisfactoriamente sin corregir en parte ese defecto. Esto se consigue mediante un *regulador de presión*. El de Moitessier descrito á continuación es el más sencillo, pero no el más perfecto, usado en los laboratorios con el objeto que nos ocupa.

RR' (fig. 89), receptáculo cilíndrico de metal, cuyo fondo atraviesan dos tubos acordillados: *ee'* en comunicación con la cañería, y Ss en comunicación con el regulador de la estufa. En dicho receptáculo se vierte una mezcla de partes iguales de agua y glicerina (ésta para disminuir los efectos de la evaporación) hasta una altura inferior á la de los tubos indicados.

C, campana metálica muy delgada y liviana, sumergida parcial-

mente en el líquido glicerinado, á causa de que la presión interna del gas la hace flotar comunicándole un movimiento ascencional cuando aumenta, y descencional cuando disminuye. La campana en su movimiento arrastra un obturador en forma de dos conos unidos por sus bases, el cual á medida que sube va disminuyendo la entrada al gas, hasta obstruirla completamente cuando llega á adaptarse contra los bordes de una apertura circular que tiene la tapa del tubo *e'*.

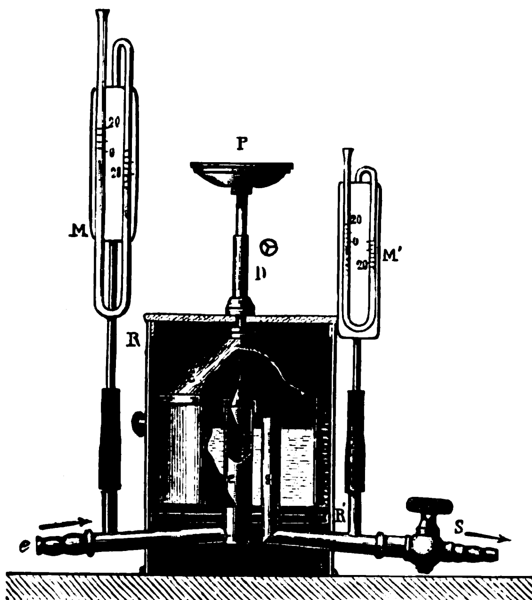


Fig. 39.—Regulador de presión de Moitessier.

P, platillo en que termina un vástago de sección triangular (véase arriba de D) unido á la campana, á la cual guía en su movimiento, y que corre con frotamiento muy suave dentro de un pilar hueco D, fijo á la tapa R del receptáculo. Este platillo tiene por objeto recibir pesos adicionales para hacer variar el peso y condiciones de flotación de la campana.

M, manómetro de aire libre que indica la presión de la cañería.

M', Id. id. que indica la presión del gas en el interior de la campana.

Comprendidas las partes del regulador, fácil es darse cuenta de cómo funcionan y llegan á establecer el régimen de equilibrio que se persigue. Para esto conviene precisar de antemano que *en ningún caso la presión de la cañería* (manómetro M) *puede ser menor que la del interior de la campana* (manómetro M′), pues eso equivaldría á que ésta estuviese siempre en su posición mas baja y el obturador lo mismo; es decir como si no existiese regulador alguno intercalado. De aquí nace la necesidad de ajustar las funciones del aparato ál mínimum de presión que suele tener el gas de la cañería, retirando ó agregando pesos en el platillo P, hasta que en esa condición, y abierta la llave S, el obturador quede á la altura en que se ve en la figura. Mientras subsista esta posición relativa de las partes quiere decir que la presión del gas en todas los puntos comunicadas con el manómetro M, es sensiblemente constante, *puesto que hace equilibrio á una cantidad también sensiblemente constante:* el peso de la campana y sus accesorios, disminuido en el empuje del líquido.

Ahora bien, si la presión de la cañería aumenta y tiende á comunicarse al interior del aparato, y á levantar la campana,—automáticamente se neutraliza al instante el exceso, en virtud de que la válvula también sube con aquella, se ajusta contra la abertura circular del tubo *e*', y disminuye la entrada del gas, ó la obstruye completamente; en este último caso, como el gas continúe saliendo por S, vuelve á bajar la válvula y en un instante otra vez se restablecen las condiciones anteriores. Por el contrario, si en las mismas circunstancias disminuye, la campana tiende á bajar, y con ella el obturador, lo que significa dar mayor paso al

gas, compensando de este modo la disminución de presión.

En lugar de reguladores de presión, como el descrito, se pueden emplear para el mismo fin reguladores *de corriente*, que no reglan la presión del gas sino que modifican su curso, de tal manera que en tiempos iguales dan paso á volúmenes iguales de gas. Uno de los más conocidos es el de Giroud; su descripción puede verse en el tratado *Manipulations de Chimie*, de Jungfleisch (J. B. Baillière, Paris, 1886).

La combinación de un *regulador de temperatura* del sistema de d'Arsonval, con un *regulador de gas*, de cualquier sistema, permite la obtención de temperaturas lo más constantemente uniformes que se puede exigir; pero hay todavía otros medios más sencillos, para procurarse uniformidad bastante á llenar las exigencias usuales de la cultivación bacteriológica. Las incubadoras perfeccionadas ó termóstatas construidas por Muencke y por Rohrbeck de Berlín, pueden llenar todas las necesidades ordinarias de un laboratorio. La fig. 40 representa un modelo bastante cómodo, debido al segundo de los fabricantes nombrados.* No sólo consta de la caja usual llena de agua sino de otra envoltura pordonde circula regularmente el aire. Este aire, antes de llegar al interior se calienta al tener que pasar por unos tubos largos y delgados que atraviesan longitudinalmente la capa de agua, y cuyas aberturas extremas comunican, de un lado con la atmósfera y del otro con el interior de la estufa. Gracias á esto no hay formación de capas de aire de diversas temperaturas. El aparato es de doble puerta,

* Precio del aparato más sencillo, de 25 × 25 × 25 centímetros: 50 marcos.

la interior formada por una hoja de vidrio, la otra de dobles paredes.

Como los cultivos no sólo necesitan calor sino también humedad, en toda estufa conviene haya un

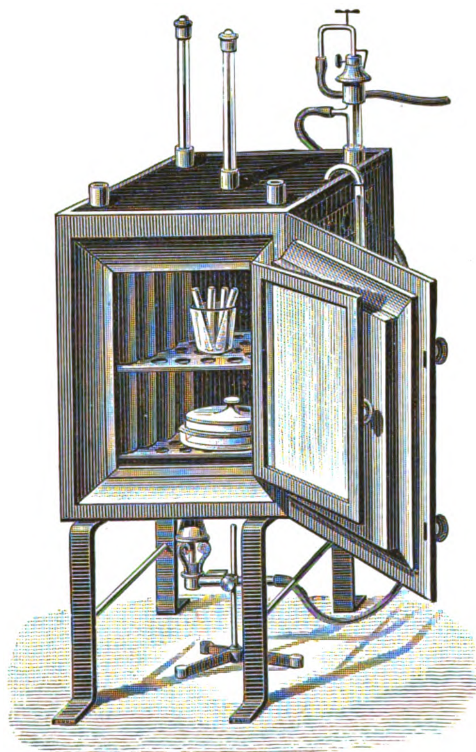


Fig. 40.—Termóstata ó estufa de cultivos de Rohrbeck.

recipiente adecuado, con agua. Sin esto, al elevar la temperatura á 30 ó más grados, por ejemplo, el aire atmosférico sin perder vapor de agua, pasa de una

fracción de saturacion dada, á otra mucho menor; es decir se seca y los cultivos tienden por lo mismo á secarse, con detrimento de la vitalidad y desarrollo de los gérmenes.

Los reguladores de esta clase de estufas, en que no se utiliza, como en la de D'Arsonval, la dilatación de la masa líquida que forma la envoltura, son más ó menos del tipo que describimos á continuación. Este termo-regulador, que es el de Bunsen, hará comprender el principio de los diversas modelos que por el mismo estilo se emplean.

El gas llega por *b* (Fig. 41), después de pasar por un

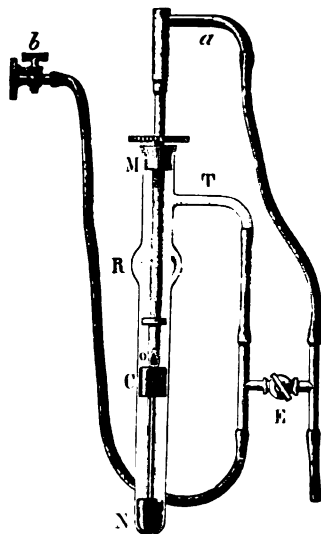


Fig. 41.—Termoregulador de Bunsen.

regulador de presión, si es necesario; y por la rama T penetra en un receptáculo en forma de tubo de ensaye, que es el que se introduce en la estufa que se quiere

regular. En el fondo (N) hay cierta cantidad de mercurio en el cual se introduce el vástago de una especie de embudo C, lleno de mercurio. La extremidad *o* del tubo de salida del gas, está á medio sumergir en el mercurio, supongamos cuando la temperatura mantenida en el aparato ó estufa es la conveniente; pero si la temperatura, sube ó baja, el gas que llena el receptáculo se dilata ó se contrae proporcionalmente, y el exceso ó disminución de presión sobre N que esto significa, hará que el mercurio suba ó baje en C, obstruyendo ó facilitando, en consecuencia, el paso del gas que por *a* va al quemador. (El objeto de la llave E es dar paso directo hasta el quemador, á una parte del gas, de manera que sólo una fracción de éste tenga que pasar por el receptáculo, disminuyendo así la rapidez con se se oxida el mercurio en esta clase de reguladores.)

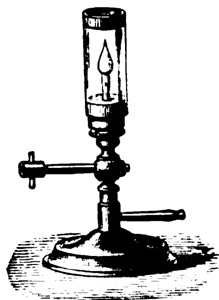


Fig. 42.—Lámpara de Muencke para estufa de cultivos.

En cuanto á los quemadores de gas, otro detalle relacionado con el manejo de las estufas de cultivos, diremos que en ellos la llama es pequeña y de combustión incompleta, como las llamas para el alumbrado; y que para evitar su extinción ó las perturbaciones

causadas por el movimiento del aire, se resguardan con pequeños tubos de vidrio ó de mica (Fig. 42).

Por último, todo regulador de temperatura, incluso el de D'Arsonval, además de la abertura variable pordonde pasa el gas, y que es graduada automáticamente, tiene un pequeño orificio independiente por el cual continúa pasando una pequeña cantidad de gas que evita la total extinción de la llama cuando por un exceso de calor en la estufa se cierra del todo el paso principal.

Dijimos, al describir la esterilización de los diferentes medios de cultivo, que como sistema debía sometérseles, recién preparados, á una prueba reglamentaria, más ó menos prolongada, á fin de evitar hasta la posibilidad de usar inadvertidamente un medio con gérmenes capaces de desarrollarse, en condiciones favorables. En tesis general, semejante prueba no es indispensable, pues si las operaciones diversas han sido hechas con suficiente cuidado y no hay dudas á ese respecto, se verá que la prueba así lo vendrá á confirmar.

Mas, siendo tantos los factores que intervienen en el resultado, comenzando con la esterilización de los recipientes y acabando con la operación de guardar en ellos los medios nutritivos, siempre será prudente someter estos productos á incubación de prueba. A este fin no es indispensable una estufa como las descritas, pues si no se tiene en el laboratorio sino uno de esos aparatos relativamente costosos, no podría sacarse, sin entorpecimientos, de su objeto primordial. Basta un aparato mucho más sencillo, con el cual se puedan limitar las fluctuaciones á 3° ó 4°, una vez regulado á la temperatura de 35°, más ó menos, que es la requerida para el caso.

La fig. 43 da idea de una estufa que cumple con esas condiciones. Trátase de un armario B, de zinc grueso ó de fierro galvanizado, cuyas paredes así como las divisiones trasversales son dobles. La parte superior

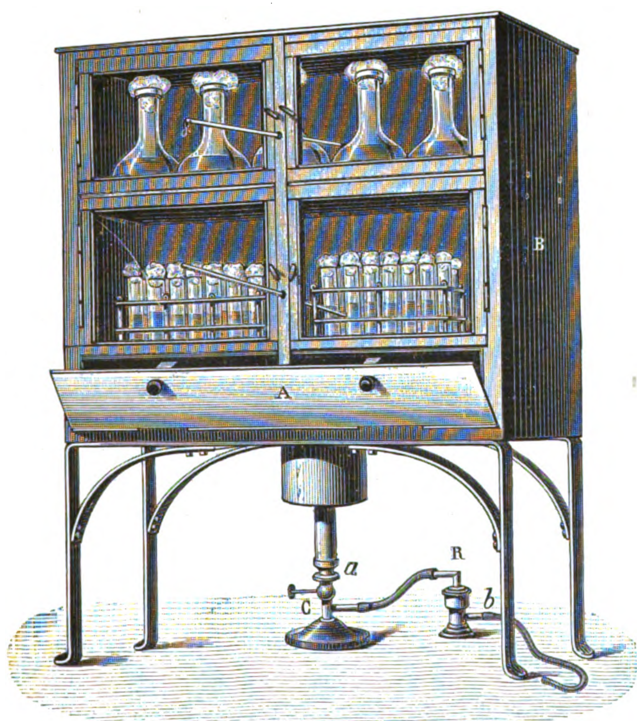


Fig. 43.—Estufa simplificada, para incubación de prueba de los medios nutritivos.

delantera la forman cuatro puertas de doble hoja de vidrio. De los tres compartimentos, el inferior no tiene más objeto que servir de cámara de aire caliente, el cual se produce con un quemador como el indicado

más atrás. Si la tápa A se halla enteramente cerrada, el aire caliente en su totalidad sigue por entre las paredes huecas y va á salir por un escape que hay en la parte superior; si la misma tapa se abre más ó menos, sólo una parte proporcional de la corriente cálida pasa por las paredes. Por medio del regulador de gas, R *b*, se alcanza suficiente uniformidad en el foco de calor, y por medio de la tapa A, que sólo es necesario mover de cuando en cuando, se regla la temperatura interna, dentro de los límites que hemos dicho, *con tal:* 1º que se coloque la estufa en lugar á propósito; 2º que se cubra con un forro de lana gruesa, cuya parte delantera pueda echarse hacia arriba para mayor comodidad; y, 3º que se examine una vez que otra los termómetros (colocados sencillamente cómo se ve en la figura) para, de acuerdo con sus indicaciones, mover la tapa A.

La temperatura va decreciendo progresivamente de abajo hacia arriba. En el aparato como de 60 ctm. de altura, cuando el termómetro inferior alcanza de 35 á 37°, el de arriba solamente llega á 20 ó 22°, y así en proporción.

II. Nociones de técnica micrográfica.

Microscopio.—El examen microscópico de los cultivos ó, más bien dicho, de los organismos celulares de pequeñez tan ínfima que los componen, exige no solamente el empleo de objetivos poderosos de inmersión homogénea, sino también de gran abertura, lo primero con el fin de alcanzar *aumento* ó *amplificación* suficiente, lo último para la mejor resolución de los detalles, según se comprenderá por las ligeras explicaciones que damos en las páginas que siguen.

Naturalmente, tales condiciones no pueden llenarse

sin el empleo simultáneo de un sistema de iluminación especial, capaz de procurar rayos luminosos en concordancia con la abertura de los objetivos.

Ambos elementos vense representados en la fig. 44: objetivo de inmersión homogénea, como de 2 mm., y condensador de Abbe, el cual para objetivos de abertura como la indicada, no necesita ser del modelo A.N. 1·40, sino de A.N. 1·20, como puede verse por los diagramas que siguen á la indicada figura.

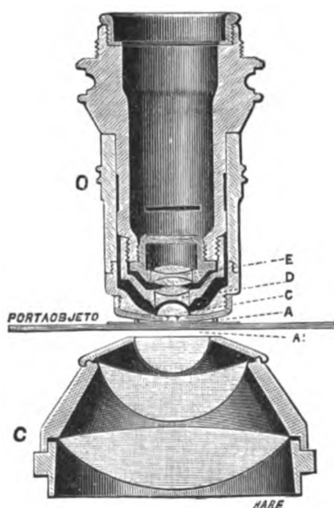


Fig. 44.—OBJETIVO DE INMERSIÓN HOMOGÉNEA Y CONDENSADOR DE ABBE. (Tamaño natural.)

O, sistema objetivo (de Swift) de 2 mm. de distancia focal nominal y 0·31 mm. de distancia anterior ó de trabajo, compuesto de 4 lentes con 7 vidrios (E, D, C), y de abertura numérica = 1·25.—A, gota de aceite de cedro, del mismo índice de refracción del vidrio, para la inmersión del objetivo.—C, condensador no acromático, de abertura numérica 1·40. (Ó vecina á 1, usado en seco.)—A', espacio en el cual debe intercalarse una gota del mismo aceite, si se quiere utilizar toda la abertura de la combinación.

Objetivos, condensador, y oculares.—Para el debido manejo del microscopio destinado á los estudios bacteriológicos, nada habría que agregar como explicación á los datos que preceden, si no fuera que el verdadero principio de la inmersión, su objeto, su alcance, etc., no son comprendidos generalmente por la mayoría de los investigadores que empiezan en este género de estudio con lentes de gran poder. Lo menos que este desconocimiento elemental de los principios ópticos de los objetivos modernos significa, es desperdicio de esfuerzos para la producción de una suma dada de trabajo, en especial si se trata de investigaciones delicadas en que hay que sacar todo el partido posible de las cualidades del instrumento, p. ej., en fotomicrografía.

El punto más importante de que conviene hacerse cargo es el relativo á la abertura de los objetivos, el cual, una vez bien comprendido, facilita extraordinariamente el conocimiento y la mejor manera de utilizar las cualidades que debe poseer todo buen instrumento.

Con el nombre de *abertura numérica* desígnase el sistema de comparación de las aberturas debido al Prof. Abbe, de Yena, la primera autoridad en materia de óptica microscópica. La abertura numérica de un objetivo cualquiera, es la relación que guarda el radio utilizable de la lente posterior con la distancia focal del objetivo.* Decimos utilizable, porque si la lente posterior no es corregida hasta los bordes con respecto á las aberraciones cromática y de esfericidad, de nada

* Conviene tener presente que en los libros y los catálogos se designa el poder de los objetivos por su *distancia focal nominal*, es decir el foco de la lente simple que equivaldría como poder de amplificación al sistema objetivo compuesto. La *distancia de trabajo* ó sea el *foco efectivo* de la combinación, es mucho menor, y depende de la distancia á que se encuentre el ocular.

sirven los rayos emergentes que corresponden á los límites de la abertura, y ésta queda reducida en proporción. La abertura es una función especial, independiente de las otras cualidades del objetivo, é íntimamente ligada con la resolución de los detalles ínfimos, es decir de las estructuras formadas por partículas separadas á menos de 10 μ., lo cual sólo puede efectuarse por "difracción," y no por los medios dióptricos ordinarios. Decimos esto únicamente con el fin de dar una razón inmediata sobre la importancia de dicha función; el que desee darse cuenta de cómo se verifica lo expuesto, puede consultar la obra de los Profs. Naegeli y Schwendener sobre el microscopio,* ó la exposición simplificada de los bellos trabajos del Prof. Abbe en el *Journal of the Royal Microscopical Society* (1881, 1er semestre).

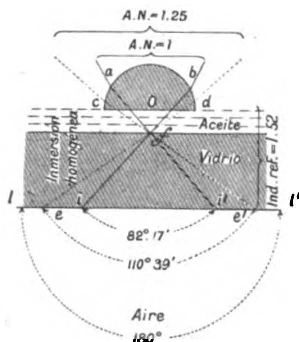


Fig. 45.—Diagrama explicativo de la abertura numérica y del principio de la inmersión homogénea.

Un cono luminoso de 82°17′ en el vidrio ó en el aceite equivale á uno teórico de 180° en el aire, ó á una abertura numérica A.N. = 1.

* La primera parte ha sido traducida al inglés bajo el título: *The microscope in theory and practice.* (Swan Sonnenschein, Londres, 1887.)

En el diagrama adjunto (Fig. 45), que representa las condiciones de trabajo de un objetivo de inmersión homogénea, (como el indicado en la figura que precede), pero sin condensador alguno, los rayos más oblicuos que teóricamente pueden ir á iluminar el punto *f* en el foco del objetivo, pasando del aire al vidrio, son los *li* y *l'i'*, que se quiebran en los puntos de incidencia *i i'*, formando un ángulo en el vidrio de 82° 17', equivalente á 180° en el aire, de acuerdo con el valor del ángulo límite en el *crown-glass*, suponiendo que su índice de refracción sea 1·52.

Como se ve, todos los rayos luminosos comprendidos en dos ángulos rectos en el aire caben, digámoslo así, en un ángulo de 82°, más ó menos, en el vidrio ó en cualquier otro medio del mismo índice refractivo: *un objetivo cuya lente posterior* (E, Fig. 44) *alcance á recoger como máximum, en buenas condiciones de trabajo, esa cantidad de rayos, tiene una abertura numérica* A.N. = 1. El objetivo representado en el diagrama tiene una abertura numérica mayor puesto que su lente frontal (en harmonía con la lente posterior) puede abarcar un ángulo de 110° 39' en el aceite, lo que equivale á A.N. = 1·25,* ó sea á mucho más de dos ángulos rectos en el aire. Esto parece paradójico á primera vista, en virtud de

* La abertura numérica tiene por expresión matemática n sen $u = a$, en que n = índice de refracción del medio; sen u = seno del semiángulo de los rayos extremos en dicho medio; y a = A.N.—Por ejemplo, en los tres casos de la figura discutida tenemos, reemplazando las letras por sus valores respectivos:

Para el aire, con 180°: $1 \times \text{seno} \frac{180°}{2} =$ A.N. 1.

Para la inmersión, con 82°17': $1{\cdot}52 \times \text{seno} \frac{82°17'}{2} =$ A.N. 1.

Para la inmersión, con 110°39': $1{\cdot}52 \times \text{seno} \frac{110°39'}{2} =$ A.N. 1·25.

que no puede haber condensador ó sistema alguno de iluminación que realice siquiera las condiciones teóricamente ilustradas en el diagrama para un objetivo de A.N. = 1, es decir la trasmisión de rayos luminosos hasta una oblicuidad de 90° en el aire, con relación al eje del instrumento.

El diagrama siguiente (Fig. 46) aclara todo esta aparente contradicción, y permite ver cómo estableciendo continuidad óptica entre el condensador y el objetivo se puede utilizar una abertura mayor que 1, el máximum teórico que un objetivo seco de distancia de trabajo infinitamente pequeña puede tener.

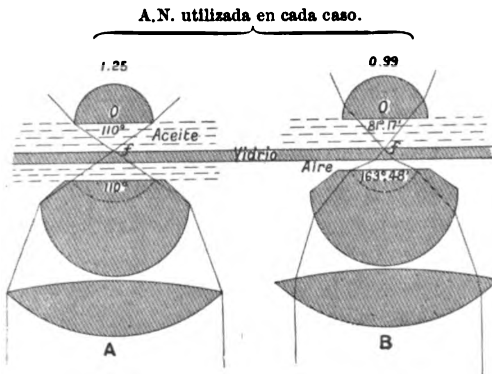


Fig. 46.—Empleo del condensador de Abbe con objetivos de inmersión.

En A, se utiliza toda la abertura, tanto del objetivo como de condensador; en B, la existencia de una capa de aire no permite alcanzar siquiera 82° en el aceite, ó sea una A.N. = 1. En ambos casos las lentes inferiores representan en tamaño natural la sección de un condensador de Abbe de A.N. 1·20 á 1·25.

La misma figura demuestra que el condensador debe tener una abertura proporcionada á la del objetivo, si

se ha de utilizar todo el poder de resolución de este último. Un objetivo de A.N. 1·40, usado con un condensador como el representado en el diagrama aludido, no equivale sino á un objetivo de A.N. 1·20 á 1.25. El más útil de los iluminadores ó condensadores del sistema de Abbe que podemos recomendar, es el que tiene una abertura numérica de 1·40.

Preciso es agregar que en el examen usual de las preparaciones frescas, coloradas ó sin teñir, una gran abertura no tiene objeto, pues son perfectamente resolubles con el condensador en seco. Es más: aún suponiendo que las condiciones del aparato sean las de A, del diagrama, el hecho de existir entre la laminilla y el portaobjeto una capa líquida de un índice de refracción menor que el del vidrio, por delgada que sea esa capa, implica un desvío de los rayos luminosos análogo, aunque no en la misma proporción, al que experimentan cuando interviene una capa de aire, como en B. Distinta cosa es, naturalmente, si se trata de preparaciones montadas *v. gr.* en bálsamo, cuyo índice de refracción es 1·53.

Lo que ante todo importa, á más de que el objetivo tenga una abertura superior á 1, son las cualidades relativas á la definición, es decir que las lentes sean corregidas con respecto á las aberraciones, ya indicadas, esférica y cromática, corrección que sólo puede llevarse á su máximum en los objetivos apocromáticos mencionados más adelante.

El poder de resolución de un objetivo es proporcional á su A.N., su poder iluminante al cuadrado de A.N., y su penetración inversamente proporcional á la A.N. Prescindiendo de la distancia focal, ó sea del poder de amplificación, y de que el sistema sea seco ó de in-

mersión, he aquí algunos datos relacionados con las aberturas más comunes en los objetivos usados en bacteriología, y que extractamos de las tablas del *Journal of the Royal Microscopical Society:*

Abertura numérica.	Angulo correspondiente en el aire.	Angulo correspondiente en la immersión homogénea.	Poder comparativo de resolución.	de iluminación.	de penetración.
0·75	97° 11′	59° 8′	0·75	0·563	1·333
0·85	116° 25′	68° 0′	0·85	0·723	1·176
0·95	143° 36′	77° 22′	0·95	0·903	1·053
1·00	**180° 0′**	**82° 17′**	**1·00**	**1·000**	**1·000**
1·20	...	104° 15′	1·20	1·440	0·833
1·25	...	110° 39′	1·25	1·563	0·800
1·30	...	117° 35′	1·30	1·690	0·769
1·40	...	134° 10′	1·40	1·960	0·714

La primera regla en micrografía es la conveniente iluminación del objeto examinado, no empleando la luz sino en la forma más adecuada y en la cantidad extrictamente necesaria para la debida resolución. Es evidente que este fin se conseguirá de un modo más rápido y seguro, sabiendo á qué atenerse respecto á las cualidades ópticas del instrumento que se tiene entre manos, que no procediendo al acaso y por tanteos, ó guiándose exclusivamente por las indicaciones de catálogos y prospectos.

A estas breves nociones sobre los objetivos agregaremos que el empleo de oculares de construcción cuidadosa es de rigor, pues de otro modo de nada servirían las buenas cualidades de los primeros. También hay que tener en cuenta que las aberraciones de las lentes son corregidas para una longitud dada del tubo, ó sea para una distancia determinada del ocular, y que el máximum de definición sólo se conseguirá en esas condiciones de trabajo.

Una palabra sobre los *objetivos apocromáticos*. El término no significa sino un acromatismo llevado más lejos que en las mejores lentes comunes, hasta conseguir la corrección del espectro secundario, gracias el empleo de los nuevos vidrios de Schott, de Yena.* La figura 47

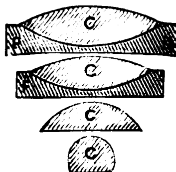


Fig. 47.—OBJETIVO APOCROMÁTICO DE 6 MM. (×4) (CCCC, *crown*.—FF, *flint*. La sección de la lente anterior es un poco alargada, en forma de herradura).

muestra la reciente fórmula de un apocromático de 6 mm. Como se ve, los *crowns* de las combinaciones posteriores se utilizan hasta los bordes. Para las aberturas inferiores á 1, en igualdad de ángulo, los apocromáticos no ofrecen ventaja sobre los buenos objetivos usuales; pero, á medida que la abertura aumenta, las cualidades de un objetivo de los primeros nombrados se hace más manifiesta, como que la corrección de las aberraciones es prácticamente completa, por lo cual se pueda forzar, por decirlo así, la capacidad del objetivo sin mengua de la definición.

Sea para la observación directa, sea para la fotomicro-

* *Crown* y *flint glass*. El nuevo *flint* se fabrica de distintas densidades, hasta la muy considerable de 5 y fracción, con el consiguiente aumento en el índice refractivo, resultado que sólo Brewster en Inglaterra había conseguido en experimentos de laboratorio. Visto en grandes pedazos, no obstante, su coloración es imperceptible, en tanto que el *flint* que entra en las lentas microscópicas usuales, y de una densidad mucho menor que la indicada, presenta el aspecto de la pez de Castilla.

grafia, los apocromáticos deben usarse con un ocular compensador especial.

La luz prácticamente más á propósito para las observaciones microscópicas del carácter que nos ocupa, y en un género de investigación que no debe estar subordinado á la contingencia de las variaciones luminosas

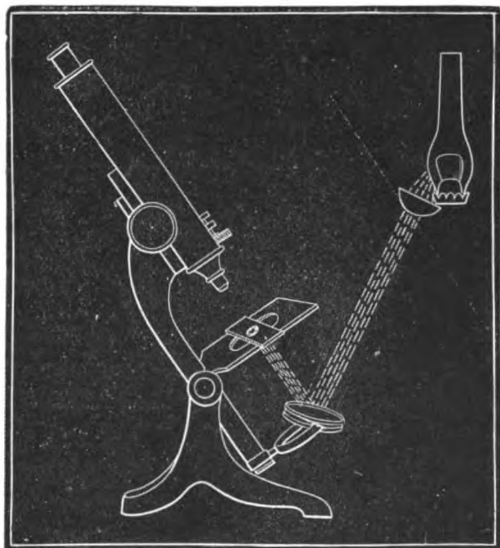


Fig. 48.—Mejor disposición de un foco de luz artificial para el microscopio.

del día, es la luz artificial de una pequeña lámpara de parafina, dispuesta en la forma que indica la fig. 48. Una lente plano convexa (ojo de buey) sirve para hacer paralelos los rayos divergentes de la lámpara, y el espejo plano del microscopio, para dirigir sobre el condensador el haz luminoso así obtenido. La lámpara se

cubre con una pantalla que dé paso á la luz por una abertura lateral, frente al ojo de buey. En último caso puede prescindirse de esta lente, empleando nada más que la luz divergente de la lámpara y el espejo cóncavo del microscopio.

Hueppe recomienda la siguiente sencilla disposición: frente á una lámpara de gas ó de parafina se coloca una pantalla plana, ennegrecida, con una abertura circular en la cual se introduce un gran matraz ó globo de vidrio lleno de agua, ó mejor de una disolución ligeramente azulada con sulfato de cobre ó con azul de metileno. De este modo se consigue una luz que puede competir con la del día reflejada por nubes blancas.

Medidas micrométricas.—La medida de las bacterias forma parte del conjunto de observaciones morfológicas que pueden servir para la identificación de las especies. Empléanse generalmente con este fin dos escalas micrométricas grabadas en vidrio: una, que se coloca como preparación ordinaria bajo el objetivo, con divisiones de 10 μ, y otra que ocupa el lugar del diafragma que separa las dos lentes de un ocular de mediano poder, y con divisiones de 100 μ ó sea 0·1 mm. cada una. Ajustado el microscopio, observaráse que las divisiones de á 10 μ (engrandecidas considerablemente, segun sea el poder del objetivo y el largor de tubo empleado) se proyectan sobre la escala del ocular, abarcando varias de sus divisiones: un objetivo de 2 mm. ($\frac{1}{12}$ de los ingleses) amplifica á 100 diámetros las divisiones, según se ve en el diagrama A (Fig. 49), cuando la distancia entre los focos conjugados es de 204 mm.* Es claro que una vez averiguada esta rela-

* Todos los datos referentes al poder de amplificación de los objetivos

ción no habrá que emplear más el micrómetro objetivo, y que examinada una preparación en idénticas condiciones de trabajo del microscopio se podrán medir los

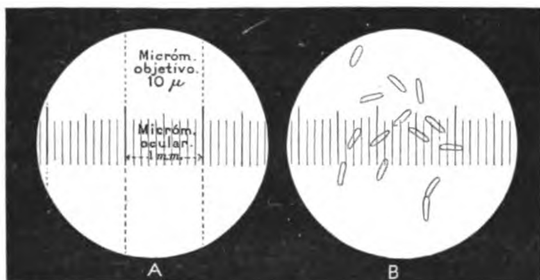


Fig. 49.—MEDIDA DE LAS BACTERIAS POR MEDIO DE MICRÓMETROS.

A.—Proyección de las divisiones del micrómetro objetivo sobre las del micrómetro ocular. Cada μ engrandecido 100 veces.

B.—Proyección, sobre la misma escala, de la imagen de una preparación bacteriológica: las células miden aproximadamente $8\,\mu$ de largo y cerca de $1\,\mu$ de grueso.

pueden deducirse de la sencilla fórmula de Cross: $f = \frac{n\,l}{(n+1)^2}$, en que f, foco equivalente en milimetros, y n, amplificación en diámetros á una distancia dada l. El valor de n se puede deducir por el método de los micrómetros, según queda explicado; pero más exacto es todavía proyectar sobre el vidrio delustrado del aparato fotomicrográfico descrito más adelante, las divisiones del micrómetro objetivo; y ver de qué tamaño resultan á la distancia l, fácil de medir, á que se hace la proyección.—Viceversa, conocido f, se puede averiguar fácilmente á qué longitud de tubo corresponde un aumento determinado del objetivo, aumento que todavía hay que multiplicar por el debido al ocular empleado, para tener la amplificación total del instrumento. Unos cuantos ratos, gastados una vez por todas, en hacer estas determinaciones tienen amplia compensación, pués es la única manera de conocerlas con exactitud. En este caso, como en el de las aberturas, los datos de los catálogos son por lo general incorrectos, y mal pueden tomarse como base en investigación de carácter científico. Trátese, sino, de verificar las distancias focales de diversos objetivos, y veráse que á veces exceden, pero que por la general no alcanzan al poder que se les asigna.

corpúsculos con el ocular micrométrico, sabiendo que cada división de éste equivale á tantos ó cuantos μ. La amplificación virtual debida al ocular no influye en el resultado, visto que es común á la escala graduada de dicho micrómetro y á la imagen real de la preparación formada en el mismo plano de la escala.

Después de un prolijo examen comparativo, y prescindiendo de los objetivos, que es cuestión aparte, no podemos dejar de recomendar como aparato de lo más á proposito para los estudios bacteriológicos—observación directa y fotomicrografía—el modelo especial (Fig. 50) construido según las indicaciones del Dr. Crookshank, por Swift & Sons, de 81 Tottenham Court Road, Londres. El objetivo de inmersión homogénea del mismo fabricante y de 2 mm. de distancia focal (en realidad de 1·8 á 1·9 mm.), tiene una abertura numérica muy vecina á 1·25, según lo hemos comprobado con el apertómetro de Abbe, y su poder de definición es admirable. Más reciente todavía como aparato, con la ventaja de poseer una platina mecánica que es una maravilla de precisión, es el modelo "EDINBURGO" (Fig. 51) fabricado por Watson & Sons, también de Londres (313, High Holborn, W.C.). Como se ve en la fig. 52, el condensador de Abbe puede sacarse del eje del aparato, con un simple movimiento, sin necesidad de descentrarlo en su soporte.

Ambos instrumentos son de construcción cuidadosa hasta en los últimos detalles, y muy superiores, en

También conviene verificar los micrómetros; nos bastará hacer presente á este respecto que tenenos un micrómetro ocular procedente del taller de los más nombrados fabricantes de objetivos, de Inglaterra, en que 100 divisiones, en vez de corresponder á 1 ctm. corresponden á 0·94 ctm., —error de 6 °/₀.

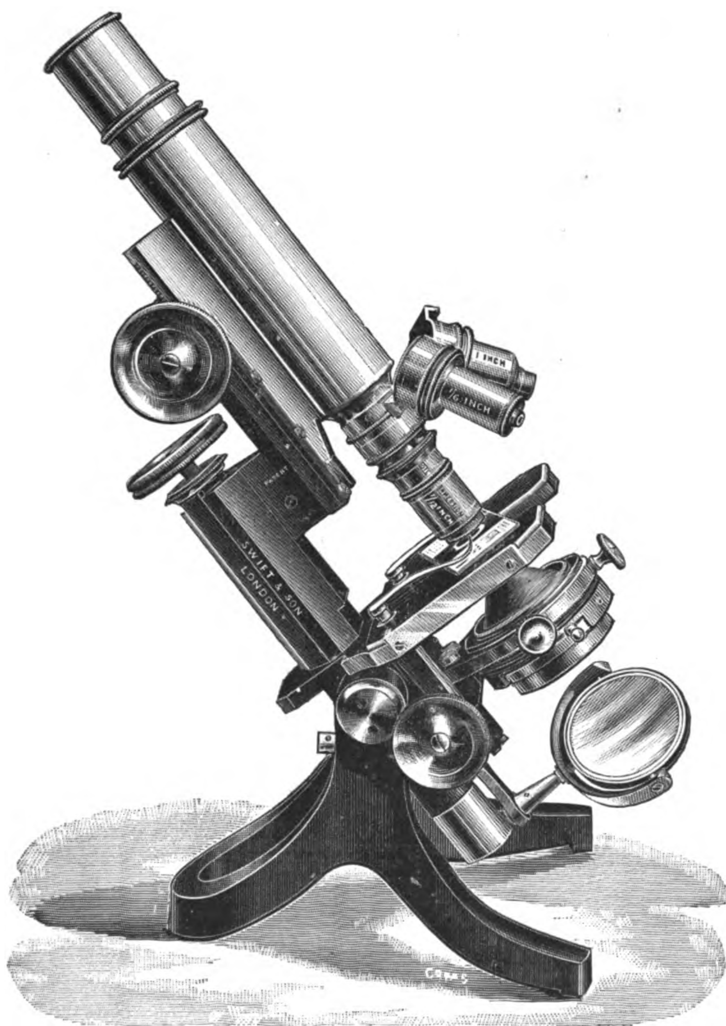


Fig. 50.—Microscopio de Swift (modelo del Dr. Crookshank) especial para investigaciones bacteriológicas. (Poco más de $\frac{1}{3}$ del tamaño natural).

igualdad de precio, á los microscopios económicos que,

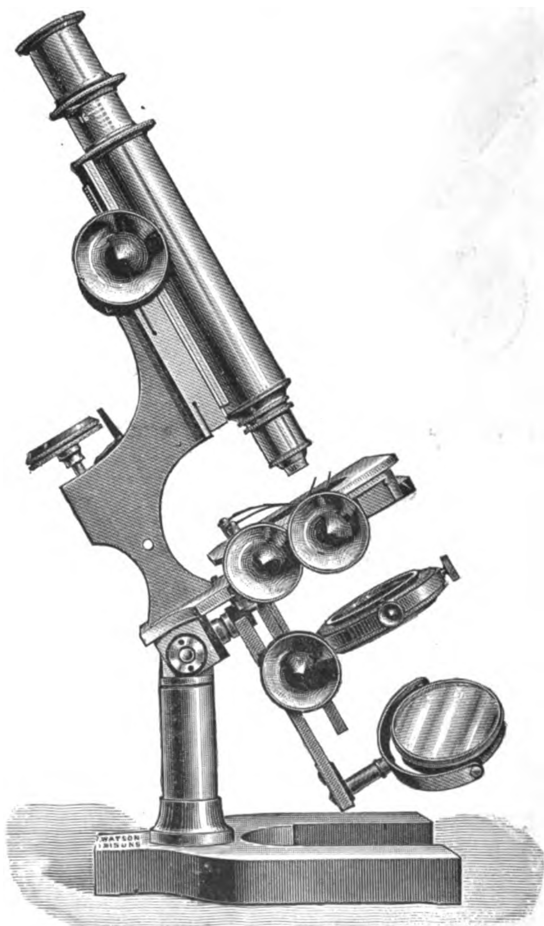


Fig. 51.—MICROSCOPIO "EDINBURGO" ESPECIAL PARA BACTERIOLOGÍA. (⅓ del tamaño natural.)

con el mismo objeto especial de los estudios bacterio-

lógicos, hacen actualmente los mejores fabricantes tanto ingleses como continentales.

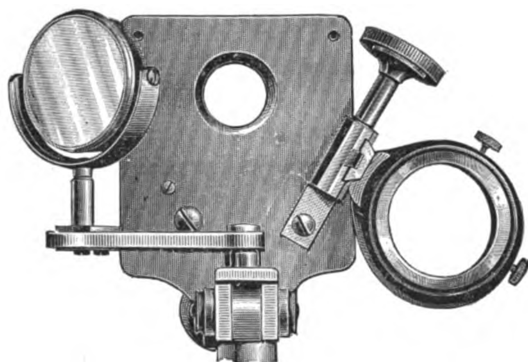


Fig. 52.—Parte inferior de la platina del microscopio "Edinburgo".

Damos en seguida, acompañada de precios aproximados, una lista de los elementos indispensables de que debe constar un microscopio destinado á la investigación bacteriológica.

	Oro.
Cuerpo ó estante, con platina mecánica y condensador de Abbe . . .	$50
Dos ó tres oculares.	10
Objetivo de inm. homog., de 2 mm., y 1·25 á 1·30 A.N.	27
Objetivo seco, de 3 mm., para el examen rápido de las preparaciones, de A.N. 0·75	12
Objetivo seco, de 12 mm. más ó menos, y de pequeña abertura, para el examen de las colonias á 80 ó 100 diámetros .	7
Micrómetro objetivo y micrómetro ocular	3

Un apocromático de 2 mm. y de A.N. 1·40 cuesta demasiado caro ($90 el de Swift, $100 el de Zeiss, $120 el de Reichert, y $125 el de Powell & Lealand), á parte del costo de los oculares especiales que requieren.

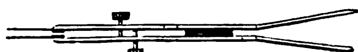
Preparaciones.—Los utensilios y productos diversos que se requieren para las preparaciones destinadas al examen microscópico de los cultivos, son los enumerados en las páginas siguientes. Por tratarse simplemente de cultivos puros (en que, por lo mismo, los microorganismos cuya especie se desea determinar son abundantes), este examen es muy sencillo, al revés de lo que suele suceder cuando se persigue la busca de escasos gérmenes perdidos en los elementos histológicos.

El objeto de las preparaciones de que trataremos, dado el género de la investigación, es pura y exclusivamente transitorio, puesto que se refiere al estudio morfológico de las células, como elemento de identificación, más bien que al estudio de los caracteres biológicos de las mismas. El valor de estas preparaciones será tanto mayor, cuanto más rápida y fielmente exhiban, bajo el campo del microscopio, esos caracteres de forma, que muchas veces bastan para decidir si la investigación debe proseguirse ó bien suspenderse *ipso facto*. Caso es, este último, que puede ocurrir cuando el antagonismo entre lo observado y la forma y otros caracteres externos de la especie que se trata de identificar es irrecusable. Por ejemplo, una preparación hecha con materia de una colonia licuante, que revelase micrococos perfectamente definidos é inmóviles, haría innecesaria toda ulterior investigación, si lo que se tratase de averiguar fuera la presencia del bacilo vírgula.

He aquí la lista de los utensilios y productos aludidos :

1. Vidrios portaobjetos y cubreobjetos, no sólo limpios á la vista sino enteramentes libres de sustancia grasa, lo que se consigue lavándolos en alcohol absoluto, y secándolos con trapos viejos de hilo (pasados que hayan sido por una disolución de carbonato sódico, antes de su lavado definitivo en agua común). Las mejores planchuelas ó portaobjetos son de vidrio blanco y delgadas; las mejores laminillas ó cubreobjetos, son las de vidrio templado, mucho más resistente que el ordinario. El grueso de estas últimas, para los objetivos de inmersión homogénea, no es cuestión de mucha importancia, con tal que no se aparte mucho de 0·1 á 0·15 de milímetro. Debe tenerse presente, sin embargo, que algunos objetivos, como por ejemplo los de Reichert de Viena, requieren, en las mejores condiciones de trabajo, laminillas de un espesor determinado.

2. Pinzas con extremidades de platino (Fig. 53),


Fig. 53.

para el mejor manejo de las laminillas á su pasada por la llama, etc.

3. Estiletes de alambre de platino con mango de vidrio (Fig. 54), para tomar y extender las partículas de cultivo sobre los cubreobjetos. Para las colonias sólidas bastan simples pedazos de alambre de platino soldados á tubos de vidrio; pero para los cultivos líquidos ó las colonias licuantes de la gelatina, los estiletes son inadecuados, á causa de la ínfima


Fig 54.

cantidad de materia que pueden retener, por lo cual debe enroscarse en forma de pequeño anillo la extremidad del alambre.

4. Prensa ó apretador para montar provisoria ó definitivamente las preparaciones. Su empleo no es



Fig. 55.—Prensa para las preparaciones.

indispensable, pero facilita muchísimo la operación, en especial cuando se trata de una serie de preparaciones hechas simultáneamente. El mejor utensilio de este género es el de Smith (Fig. 55), que vende R. &. J. Beck de Londres.

5. Parafina sólida, ó barniz espeso de asfalto para cerrar las preparaciones.

Todo lo anterior sirve para las preparaciones no teñidas. Cuando se trata de preparaciones coloradas, necesítase además :

6. Disoluciones colorantes :

a. Disoluciones alcohólicas saturadas de fucsina, de morado de metilo y de azul de metileno. Consérvanse indefinidamente, y para su más cómodo manejo pueden guardarse en frascos gotarios (Fig. 56), ó mejor en frascos con tapas pipetas. Gracias á uno ú otro sistema se pueden preparar en un instante, en vidrios de reloj, las disoluciones

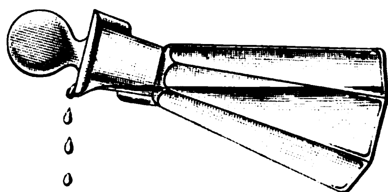


Fig. 56.—FRASCO GOTARIO PARA LAS DISOLUCIONES COLORANTES.

hidroalcohólicas que sirven para teñir las preparaciones.

b. Disoluciones acuosas concentradas de los mismos colores. Se conservan mal, por lo que es necesario renovar su preparación con cierta frecuencia. A más, deben filtrarse en pequeños filtros de papel de Suecia las pocas gotas que de ellas se necesitan cada vez.

c. Disolución fenicada de fucsina: 1 gramo de fucsina, disuelto en 10 cc. de alcohol, se agrega á 100 cc. de agua saturada de fenol (5 %).

d. Disolución de morado de genciana en agua de anilina, para el método de Gram: agítanse como 5 cc. de aceite de anilina con 100 cc. de agua destilada, durante 5 minutos; fíltrase la emulsión resultante, y al líquido filtrado se agrega gota á gota disolución concentrada alcohólica de morado de genciana, hasta que se produzca un ligero aspecto opalino. Esta disolución hay que usarla recién preparada solamente.

7. Agua destilada y, si es posible, esterilizada. Sirve para el lavado de las preparaciones y para hacer las disoluciones acuosas de anilina, ó la disolución de las alcohólicas. Se puede guardar en un frasco sifón como el de la Fig. 12, pág. 148.

8. Alcohol absoluto, para las disoluciones antedichas, y para descolarar las preparaciones muy teñidas.

9. Vidrios de reloj, ó pequeños recipientes análogos, para los baños colorantes.

10. Lámpara de alcohol.

11. Disolución de bicloruro de mercurio al 2 por mil, con 5 por mil de ácido tártrico ó clorhídrico. Todas las planchas y cubreobjetos de las preparaciones inutilizadas se ponen en una cápsula con esta disolución antiséptica. El ácido tiene por objeto impedir el precipitado que forma el bicloruro con las sustancias albuminóideas.

Los otros objetos ó productos de uso menos general se indicarán en el lugar correspondiente.

A. Preparaciones sin colorar.

No equivalen sino á las pequeñas cámaras húmedas en que se estudian microscópicamente muchas de las funciones biológicas de los microbios, con la diferencia que en nuestro caso sólo es cuestión de un examen superficial, para observar la movilidad y otros caracteres que no pueden observarse tan bien en las preparaciones coloradas.

Para obtenerlas, basta colocar sobre una laminilla una pequeña gota de agua destilada y diluir en ella una partícula del cultivo, é invertir en seguida la laminilla sobre un portaobjeto. Con suave presión y tratando de evitar las burbujas de aire, se comprimen ambos vidrios valiéndose de un apretador como el recomendado en la lista precedente. Quitado el exceso de líquido de los bordes del cubreobjeto, ciérrase provisionalmente la preparación (que es lo único que se necesita), sea por medio de barniz de asfalto, espesado al aire á fin de que

si demasiado líquido no penetre por capilaridad entre los vidrios, sea rodeando el cubreobjeto con pedacitos de parafina, que se funden y extienden uniformemente al rededor de la juntura por medio de un alambre de platino caliente. Sin este cerramiento provisional secaríase el contenido demasiado pronto, y como es tan sencillo llevarlo á cabo en brevísimo tiempo cuando se emplea la parafina, debe adoptársele de preferencia á la simple superposición de la laminilla sobre el portaobjeto, siempre que se trate de preparaciones sin teñir, que no pueden observarse tan fácilmente como las coloradas.

La observación al microscopio se hace empleando la luz estrictamente necesaria, á cuyo fin se retira el condensador para disminuir la abertura, ó aún se saca completamente. Sólo en condiciones adecuadas de iluminación pueden verse con perfecta claridad las células, móviles ó no, en su estado natural. Gracias á la desigual refringencia entre el líquido y las células, hay formación de imagen, y aquellas destácanse de una manera marcada en el campo del instrumento.

Esta observación de los gérmenes sin colorar es muy instructiva, y nunca debe dejar de hacerse simultáneamente con la de que se trata en seguida.

B. Preparaciones coloradas.

Hay dos maneras de hacerlas: (1) por el método rápido, y (2) por el consistente en montarlas con el carácter de definitivas.

1. *Preparaciones teñidas por el método rápido.*—Sobre un cubreobjeto perfectamente limpio se pone, por medio del inoculador de alambre de platino, una pequeña gota de disolución muy débil, acuosa ó hidroalcohólica, de fucsina ó de morado de metilo, y

en ella se diluye una pequeñísima cantitad del cultivo en examen. Procédese, en seguida, como en el caso ya descrito de las preparaciones sin teñir, salvo lo de montar la preparación, si se trata exclusivamente de un examen preparatorio de los gérmenes.

Las preparaciones teñidas por el método rápido nunca se presentan tan bien recién hechas como cuando datan de algun tiempo, de algunas horas por lo menos : poco á poco, á pesar de lo débil de la disolución colorante, van los gérmenes absorbiendo color, en tanto que el líquido lo pierde. Después de esto, nunca faltan en ellas ciertos espacios en que los gérmenes, adheridos á firme al vidrio de la laminilla, presentan distribución uniforme y coloración perfecta, como no podría exigirse mejor para la observación directa ó para la fotomicrografía. Con los espirilos del cólera, p. ej. sucede á veces que esta adherencia accidental se verifica de una manera curiosa : el contorno celular, netamente marcado por lo común, desaparece á la vista dando lugar á una especie de difusión del protoplasma, y á un aumento en la dimensión aparente de las células. La forma, en cambio, no solamente permanece inalterable sino que gana en definición, en limpieza. La fig. 2, Pl. II. es un ejemplo de lo dicho. Por el contrario, en las preparaciones pasadas por la llama, según el método general descrito en seguida, las células experimentan alteración marcada en las dimensiones, como puede verse comparando la figura anteriormente indicada con la No. 1 de la misma plancha.

Esto nos indica que para que las observaciones tengan valor comparativo, menester es que se hagan con preparaciones idénticamente montadas.

2. *Preparaciones pasadas por la llama.*—Se destinan

para ser montadas de un modo definitivo sea en algún medio líquido, sea en bálsamo. La marcha que para obtenerlas debe seguirse es la siguiente:

1º. Una partícula del cultivo en su condición natural, ó bien diluida en pequeña gota de agua destilada que se coloca sobre la laminilla, extiéndese en capa lo más delgada y uniforme posible por medio del alambre de platino. Otro sistema consiste, no en extender el cultivo como queda dicho, sino en colocar sobre él otro cubreobjeto y tomar ambos vidrios entre el índice y el pulgar, haciéndolos resbalar uno sobre otro, hasta conseguir distribución igual de la materia. Por fin, y este es uno de los sistemas más convenientes, puede tomarse una *impresión ó calco* (*Klatschpräparat* de los alemanes) de las colonias en gelatina, depositando sobre ellas y comprimiendo suavemente una laminilla, que despues se levanta con una aguja ó con el estilete de platino. Gracias á este procedimiento lógrase que las células se adhieran al vidrio tal cual se encuentran dispuestas en la colonia.

2º. Obtenida, por cualquiera de los métodos anteriores, una capa muy fina sobre el cubreobjeto, pónese éste á secar lentamente, en una corriente de aire si es posible.

3º. Perfectamente seca la capa, pásase con cierta lentitud la laminilla sobre la llama de una lámpara ed alcohol, y se repite la operación por tres ó cuatro veces. No hay regla fija sobre lo anterior: baste indicar que su único objeto es provocar la coagulación de la materia albuminóidea del cultivo, de suerte que al efectuar la teñidura no se disuelva ó desprenda la película en que están embebidos los organismos. Un exceso de calor destruye ó altera la forma de éstos.

4º. Viértese en un vidrio de reloj una pequeña canti-

dad de agua destilada, á la cual se agregan unas cuantas gotas de cualquiera de las disoluciones colorantes concentradas de que hemos hecho mención; depositase en este baño, con la capa hácia abajo, la laminilla preparada según lo indicado en el número anterior, y después de fría. Unos cuantos minutos suelen bastar para la perfecta coloración de los organismos; si no, prolóngase la acción por el tiempo que sea necesario, ó bien se trata de activarla calentando ligeramente el baño colorante.

5º. Por último, retirada de éste, se lava la preparación con agua destilada y en tal condición y sin secar, móntase según se indicó para las preparaciones sin teñir. Para el objeto que nos ocupa, no es necesario montarla en bálsamo; pero si se quiere, puede montarse en un medio líquido de mayor refringencia que el agua, como ser en una mezcla de partes iguales de glicerina y agua, ó bien en una disolución concentrada de acetato de potasio. Antes de montarla, si hay exceso de color, se pasa la preparación por un baño de alcohol absoluto; ó bien, por uno de ácido acético muy diluido, caso que sea necesario limpiarla de partículas salinas adheridas á la capa, y que no han salido con el agua ó el alcohol.

Método de coloración y de descoloramiento de Gram.— Como disolución colorante se emplea la de agua de anilina saturada de morado de genciana indicada más atrás. Las preparaciones en cubreobjetos, después de pasadas por la llama y de enfriadas, se tiñen en dicha disolución de la manera ordinaria; en seguida se lavan rápidamente en agua destilada ó en alcohol, y se sumergen durante un minuto en la disolución descolorante de Gram, así compuesta: yodo, 1 gr.; yoduro de potasio, 2 gr.; agua destilada, 300 cc.

Hay microorganismos que quedan teñidos después de esta doble operación ; otros no se tiñen. Como se verá en el capítulo siguiente, sácase partido de esta diferencia de acción en el examen cualitativo de las bacterias.

Fotomicrografía.—En todo examen microscópico hay necesidad de dejar constancia de las observaciones hechas, ya sea en forma de preparaciones definitivas ya en la de representación gráfica de los objetos observados. El primer sistema es de uso forzosamente limitado: una ó varias preparaciones no pueden constituir documento de carácter general, al alcance de quienquiera que por estudio ó por curiosidad científica necesite imponerse de su naturaleza. En cuanto á la representación gráfica de las mismas, carece de valor si no es de una fidelidad y exactitud al abrigo de toda objeción. La fotografía permite realizar este último desideratum de una manera perfecta cuando se trata de objetos microscópicos trasparentes de magnitud apreciable, y poco menos cuando se trata de los infinitamente pequeños. La aplicación de dicho arte á la reproducción de las preparaciones microscópicas constituye la *Fotomicrografía.*

La fotografía de las bacterias pertenece á lo que podríamos llamar alta fotomícrografía, por cuanto exige amplificaciones por lo menos de 500 diámetros y el consiguiente empleo de objetivos de gran poder. No arredre esta prevención al investigador que comienza : hoy día la operación indicada está al alcance de cualquiera y no demanda otros recursos que los que debe poseer el más modesto de los laboratorios, ni más conocimientos que los usuales de técnica micrográfica y de fotografía.

Los elementos componentes del aparato fotomicrográfico, helos aquí :

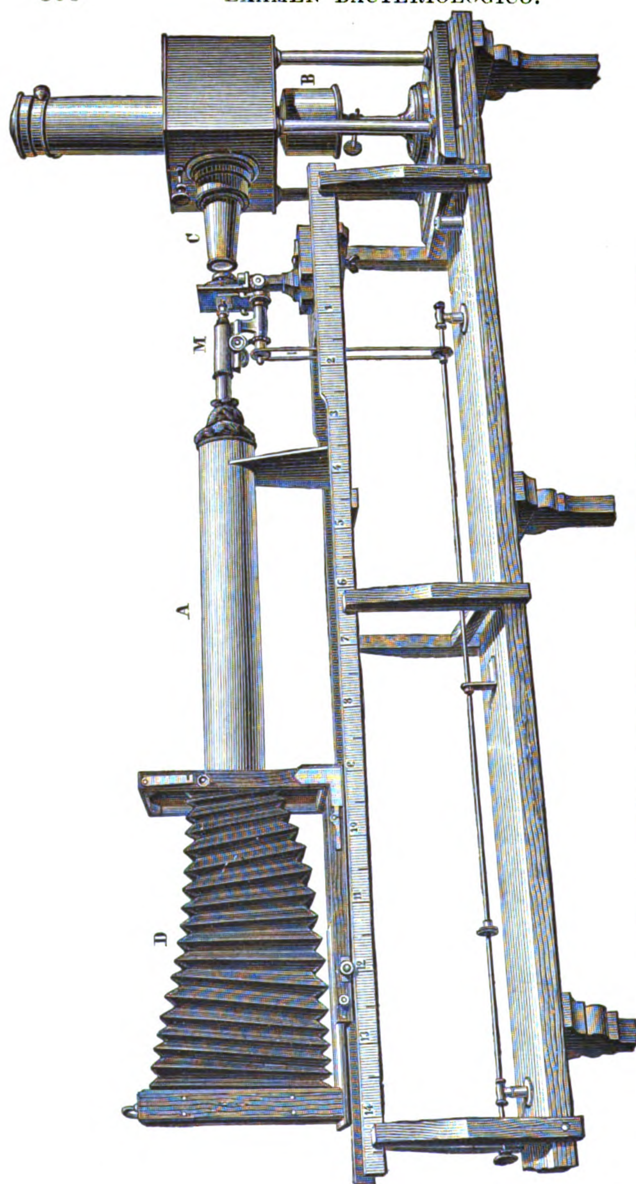


Fig. 57.—Banco fotográfico dispuesto para la fotomicrografía.

D, cámara. A, alargadera. M, microscopio. C, lente ó sistema de lentes, montadas en un tubo, para la producción de un haz de rayos paralelos. B, foco luminoso, en este caso una lámpara de petróleo como de 20 velas de intensidad.

1. Microscopio.
2. Foco luminoso.
3. Cámara fotográfica,

todo dispuesto, en el orden que indica la fig. 57, sobre una mesa ó banco á propósito.

Un buen pie de microscopio con platina mecánica, ó por lo menos con un accesorio para mover mecánicamente la preparación, es lo mejor. Nada iguala, á este respecto, al modelo "Edinburgo" descrito anteriormente. La parte óptica del microscopio es la misma que hemos indicado para la observación directa: objetivo de inmersión homogénea, de 2 mm. y A.N. 1·25; condensador de Abbe; oculares. Agréguese á esto los micrómetros, para determinar una vez por todas, según el método ya expuesto, los datos concernientes á la amplificación. El objetivo merece consideración especial. Lo que más importa para nuestro caso es su buena definición á la distancia relativamente considerable á que debe formarse la imagen. Los mejores objetivos usuales dejan mucho que desear á ese respecto, puesto que se construyen corregidos para una longitud de tubo que como máximum alcanza á 25 ctms. Es evidente, entonces, que después de los apocromáticos—los únicos objetivos que se acercan á la perfección en fotomicrografía—deben preferirse aquellos corregidos para la mayor distancia á que se usan con respecto al ocular.

Sobre el foco luminoso diremos solamente que el más sencillo, entre los que pueden emplearse para la fotografía de las bacterias, es una lámpara de parafina, en combinación con una lente para hacer paralelos los rayos que deben caer sobre el condensador. La disposición de la llama, con referencia á la lente, vese en

el diagrama adjunto (Fig. 58). Una lámpara con mecha de 3 centímetros de ancho es suficiente; y si la mecha se ha secado previamente en una estufa antes de sumergirla en el petróleo, y á éste se ha agregado un poco de alcanfor, la luz es bastante poderosa ara aplicarla á amplificaciones de 500 á 800 diámetros, con exposiciónes de 4 á 10 minutos entre esos extremos. Por supuesto, nos referimos al caso de emplearse planchas que no bajen de 20° del sensitómetro de Warnerke, y prepa-

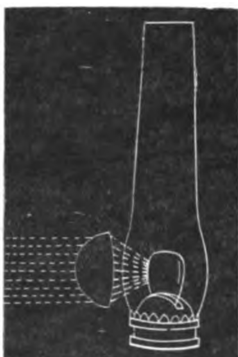


Fig. 58.—Sistema de iluminación con lámpara de petróleo, usado en fotomicrografía.
La llama se coloca de canto sobre el condensador.

raciones teñidas, y con suficiente contraste. Cuando éste es muy débil en las preparaciones *hay que disminuir la intensidad de la iluminación* (sea retirando el condensador, sea reduciendo el diafragma), *y que prolongar*, en cambio, *la exposición*. Es esta una regla general, cualquiera que sea la naturaleza del foco empleado, para obtener contraste en el negativo.

Mejor que la lámpara de parafina es, indudablemente, una lámpara de candencia de 20 á 30 velas de intensi-

dad (concentrada en una pequeña espiral), como las de Edison, que Stout Meadowcroft & Co. de Nueva York fabrican para el cioptícón; pero su uso no es práctico sino donde se disponga de alumbrado eléctrico permanente, que haga innecesario el empleo siempre lleno de inconvenientes de las baterías.

Por último, con respecto al mismo asunto, la luz más usada al presente es la oxhídrica, gracias á lo sencilla que se ha hecho su producción empleando el oxígeno que se vende comprimido en cilindros de metal. Desgraciadamente, no existe aún entre nosotros este último adelanto para poder utilizarlo.

La cámara fotográfica no necesita descripción especial: cualquiera, de pequeño ó mediano tamaño (9 × 12 ó 13 × 18), puede servir, siempre que se le adapte una alargadera para alcanzar la distancia requerida entre el objetivo y el vidrio delustrado. Este dato sobre la longitud total de la cámara, incluyendo en ella el largo del tubo del microscopio, etc.* se deduce fácilmente de la fórmula $l = \frac{f(n+1)^2}{n}$, en que l = distancia buscada; f, foco del objetivo; y n, amplificación en diámetros que se desea conseguir. Por ejemplo con un objetivo de 2 mm. obtendráse una amplificación de 700 diámetros á una distancia $l = \frac{2 \times (701)^2}{700} = 1^{m} \cdot 404$.

Las planchas usadas especialmente para la fotografía de las preparaciones coloradas son las *isocromáticas* ú *ortocromáticas*, en atención á que reproducen de un modo proporcional la intensidad aparente de los

* Dentro del tubo del microscopio hay que introducir un cilindro de papel, forrado interiormente de terciopelo negro, con el fin de evitar los reflejos de la superficie metálica.

diversos colores. Las planchas comunes no sirven sino para la fotografía de preparaciones teñidas con amarillo ó moreno de Bismarck, ó con vesubina (disoluciones acuosas concentradas preparadas con agua caliente y después filtradas). Aunque á veces la coloración es muy débil, lógrase suficiente contraste, como puede verse por la fig. 58 plancha . . . , graduando la posición del condensador ó interponiendo entre éste y el foco luminoso—si es que se emplea una lámpara de parafina ú otra luz en que predominan los rayos amarillos—vidrios ligeramente azulados.

Hemos indicado los elementos y los principios generales que se utilizan para llegar á fotografiar las preparaciones microbianas; entrar en los minuciosos detalles que esta operación implica, sería apartarnos demasiado del objeto de este libro, por lo cual damos en seguida una lista de las obras especiales más recientes que pueden consultarse sobre la materia. Pero, no olvide el operador que el camino más corto para llegar á buen resultado es formarse, ante todo, concepto cabal de las funciones que debe desempeñar cada parte del aparato, y de cómo se regulan á voluntad conociendo los principios científicos del caso. De otro modo, como dijimos al bablar de la observación directa, hay que proceder por tanteos, gastar más tiempo y dinero del necesario, y en más de un caso someter á ruda prueba el temperamento del investigador.

Ahora bien ¿qué objeto práctico puede tener la fotomicrografía en el estudio bacteriológico de las aguas? Vamos á decirlo. Reconocida la necesidad de dejar constancia documentada, en cuanto es posible, de los resultados de una investigación cualquiera, no habría otro medio en el caso indicado, que llenar esa necesidad ape-

lando á las preparaciones montadas definitivamente, de valor inapreciable en micrografía clínica, pero menos útiles que la reproducción múltiple y exacta de ellas, en estudios higiénicos de carácter general. Por otra parte, el empleo de la fotomicrografía en la investigación bacteriológica de las aguas puede hacerse en condiciones especialísimas de sencillez y de oportunidad. Por ejemplo, si hay que examinar varios cultivos, en preparaciones teñidas por el método rápido, la observación puede hacerse con el microscopio dispuesto sobre el banco fotográfico, como lo indica la fig. 57, y retirando hacia atrás la cámara. Si se presentan en el campo del microscopio partes interesantes y fotografiables (que nunca faltan en ese género de preparaciones), nada más oportuno que efectuar su reproducción, armando á ese fin el aparato en unos cuantos instantes. La mayor parte de las fotomicrografías que se encuentran al final de este libro, han sido obtenidas del modo indicado. Inútil advertir que la excelencia material de los resultados no siempre puede conseguirse en estas condiciones, es decir subordinando la fotomicrografía á la investigación y no ésta á la primera.

He aquí las obras á que antes hicimos referencia :

Boston, 1884. G. Sternberg. *Photo-micrographs and how to make them.* Con numerosas fotomicrografías, algunas de preparaciones bacterianas.

Londres, 1886. I. H. Jennings. *Photo-micrography, or how to photograph microscopic objects.*

Londres, 1887. E. Crookshank. *Photography of Bacteria.* Con 86 fotomicrografías.

Londres, 1887. E. C. Bousfield. *Guide to the Science of Photo-micography; containing exposure tables and rules for working.* Puede consultarse,

además, el excelente artículo del mismo autor: *Du contraste photomicrographique*, en los Annales de micrographie, de Miquel (p. 71, t. I., noviembre de 1888).

Yena, 1888. CARL ZEISS. *Special Catalog über Apparate für Mikrophotographie.*

Berlín, 1889. C. FRAENKEL y R. PFEIFFER. *Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde.*

Las dos últimas obras contienen numerosas fotomicrografías, todas hechas con los nuevos objetivos apocromáticos.

III. INFECCIÓN EXPERIMENTAL.

El complemento de las diversas pruebas, tanto micrográficas como de reacciones de cultivo, que sirven para establecer el carácter diferencial de las especies bacterianas, consiste en inocular artificialmente, en varias formas, cultivos puros de dichas especies en animales susceptibles de infección de tal naturaleza. El empleo regular de esta prueba implica la necesidad de elementos muy distintos de los que hasta aquí hemos descrito como anexos á la cultivación bacteriológica pura y simple, la cual no exige como terreno apropiado para observar los fenómenos de crecimiento de los microorganismos sino medios nutritivos inertes y de fácil preparación. Los experimentos sobre la acción fisiológica de los cultivos, por el contrario, requieren forzosamente el tener á mano variedad de animales como medios en que observar, no ya la forma de crecimiento sino las cualidades patogénicas de los cultivos puros inoculados. La debida conservación de estos elementos vivientes, así antes como después de sometidos á infección experimental, exige disposiciones y cuidados propios de un

laboratorio completo y especial, y sin los cuales la investigación por su misma delicada naturaleza no se hallará libre de fracaso ó de reproches, cualquiera que pueda ser la habilidad del operador. Para pronunciar dictamen acerca del carácter higiénico de un agua, no es necesaria esta prueba, como se verá por las observaciones que se hacen en el capítulo siguiente (II. EXAMEN CUALITATIVO); pero, á fin de completar el programa de las diversas operaciones de que hasta aquí puede echarse mano en toda investigación bacteriológica, concretámonos siquiera á enunciar algunos de los métodos generales de inoculación que se usan en los laboratorios con el fin discutido. Los detalles del caso pueden verse en alguno de los tratados de vivisección ó de fisiología experimental.*

1. *Inoculación subcutánea.*—Consiste en hacer un pequeño tajo en la piel del animal, en separar la misma, de los tejidos adyacentes, por medio de un bisturí, y en introducir en la cavidad formada el material infeccioso.

2. *Inyección subcutánea.*—Se diluye en agua esterilizada el cultivo que se va á inyectar y, por medio de una

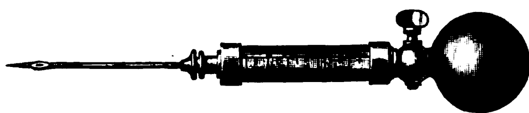


Fig. 59.—JERINGA DE KOCH, PARA LA INYECCIÓN SUBCUTÁNEA.

jeringa hipodérmica por el estilo de las de Pravaz, se ingiere el líquido introduciendo la aguja de la jeringa en la base de un pliegue hecho en la piel desnuda del animal en lugar excogido á propósito. El instrumento más conveniente para la inyección es la jeringa ideada por Koch (Fig. 59), la cual se esteriliza, colo-

* Por ejemplo: LIVON. *Manuel de vivisections.* BURDON SANDERSON, KLEIN, FOSTER y BRUNTON. *Practical Physiology.*

cada sin el globo de goma en un tubo de ensaye tapado con algodón, en la estufa de aire caliente. La punta de la aguja se preserva aforrándola también con algodón.

3. *Inyección en la cavidad peritoneal.*—Se hace, como la inyección subcutánea, con la jeringa de Koch, adoptando las mismas precauciones generales, y evitando, sobre todo, la perforación de los intestinos. Es el método más apropiado para provocar la infección de las ratas por medio de cultivos tíficos en caldos. [Las opiniones están divididas acerca de si la muerte de estos pequeños animales inoculados intraperitonealmente con 1 cc. de dicho cultivo proviene de verdadera infección, con multiplicación de gérmenes, ó bien de mera intoxicación debida á la tomaína del cultivo (tifotoxina de Brieger).]

4. *Infección por las vías respiratorias.*—El método es conveniente, pero complicado porque exige la previa aplicación al animal de una cánula traqueal, para después, por medio de una jeringa, introducir el material virulento diluido en agua esterilizada.

Cualquiera que sea el método empleado para provocar la infección, los resultados no se hallarán libres de objeciones, más ó menos serias, si no se adoptan las siguientes precauciones generales:

1ª. Antisepsia rigurosa en todo el curso de la operación, debiendo desinfectarse no solamente los instrumentos ó utensilios empleados, sino también el lugar de la piel que se haya elegido para la inoculación.

2ª. Empleo de las dosis más pequeñas de virus, compatibles con la producción de los fenómenos mórbidos, á fin de evitar complicaciones debidas á la acción de las tomaínas.

CAPÍTULO XIII.

MÉTODOS ESPECIALES PARA EL EXAMEN ESTADÍSTICO Y CUALITATIVO DE LAS BACTERIAS DE LAS AGUAS.

La prosecución del más sencillo y elemental estudio de la naturaleza indicada por el título que precede, implica en todo laboratorio el consumo constante y simultáneo de no escaso número de conservas nutritivas: de aquí la primera recomendación general, de tener siempre á mano provisión suficiente de tubos de jaletina, caldos, etc. Viene en seguida la más importante aún de proceder con perfecto método en el manejo de los muchos cultivos que suelen juntarse cuando hay varias aguas en examen: inevitables serán dudas y equivocaciones si á cada tubo, plancha de cultivo ó lo que fuere, no se pone un marbete en que se designe por lo menos el número de orden y la fecha en que se hizo la siembra; y si, todavía, al lado de esos mismos datos anotados en registro especial, no se van inscribiendo las observaciones á que dé lugar la inspección ó examen diario del cultivo correspondiente. Tan sólo merced á expediente semejante marcharáse en toda investigación con la seguridad de no haber incurrido en confusiones cuyo menor inconveniente significará lamentable pérdida de tiempo, cuando no pérdida total del trabajo emprendido.

Sobre la bondad y acertado uso de los materiales

y aparatos que entran en la investigación bacteriológica no cabe insistir aquí; hanse dado en el capítulo que precede los detalles generales del caso, y á ellos baste atenerse al utilizar los mencionados elementos en el estudio particular de que pasamos á ocuparnos.

I. Examen estadístico.

El examen estadístico ó numérico de los gérmenes del agua comprende las cuatro siguientes operaciones generales, comunes á los tres métodos que para llevar á cabo ese examen se describen en la primera sección de este capítulo:

1. Toma de la muestra de agua:

(*a*) De las llaves de canalización.
(*b*) De aguas descubiertas, accesibles á la mano.
(*c*) De aguas inaccesibles.

2. Siembra de una pequeña cantidad de la misma:

(*a*) Directamente, ó previa dilución, en gelatina nutritiva. } [Método de Koch.]
(*b*) Directamente, ó previa dilución, por fraccionamientos en caldo.
(*c*) Directamente, ó previa dilución, por fraccionamentos en gelatina. } [Métodos de Miquel.]

3. Incubación de la siembra, por un tiempo dado, á una temperatura media de:

(*a*) 35° para el caldo.
(*b*) 20° para la gelatina.

4. Cuenta de los cultivos aislados resultantes de lo anterior:

(*a*) Según el número de "colonias" brotadas en la gelatina.
(*b*) Según el número de fraccionamientos de caldo alterados.

A lo que puede agregarse, todavía, la operación de

dejar constancia, en forma de documentos fotográficos ú otros, de los resultados numéricos obtenidos por el método de las siembras en gelatina. Dicha operación se describirá en el lugar correspondiente.

Solamente de la toma de las muestras trataremos por separado: lo demás queda incluido en la descripción de cada método particular.

Toma de la muestrasde agua.—Los recipientes destinados á este objeto necesitan una preparación previa, sin la cual los resultados del examen estadístico pueden llegar á ser completamente erróneos. No basta la perfecta esterilización de dichos recipientes; es menester, además, haberlos lavado previamente con una pequeña cantidad de ácido sulfúrico, ó clorhídrico, para barrer con la materia orgánica adherida al vidrio, y en seguida enjuagado repetidas veces con buena agua común. Gracias á esto, tiénese la seguridad de que el agua que se va á tomar para el ensaye no será contaminada orgánicamente, y también de que no habrán sustancias antisépticas que lleguen á modificar aunque sea en mínimo grado la vitalidad de los gérmenes cuya cuenta se trata de efectuar. Es esta una regla general para todo utensilio que haya de estar en contacto, sea con las aguas en estudio, sea con agua esterilizada para la dilución de las anteriores. Después de esta prevencion, sólo nos queda entrar en algunos detalles para cada caso particular de los enunciados al principio de la lista ó programa de operaciones que entran en el examen bacteriológico cuantitativo.

1º. *De la cañería de distribución.*—Es este el caso más simple. El recipiente para la muestra puede ser un pequeño frasco de forma común, con tapa esmerilada. Lavado de la manera antedicha y bien

enjugado interior y exteriormente se le adapta la tapa, y sobre ésta un capuchón de algodón que se sujeta al cuello del frasco por una amarra de hilo ó cáñamo, fácil de deshacer en el momento de ir á recoger el agua. En seguida se esteriliza en la estufa de aire caliente, de acuerdo con las prescripciones usuales. Es muy conveniente tener una buena provisión de frascos así preparados.

Para recoger la muestra, hay que dejar abierta la llave de la cañería por algún tiempo, á fin de que corra el agua detenida, y no se reciban en el frasco las primeras porciones que pueden estar más ó menos alteradas por el reposo y un prolongado contacto con el metal oxidable de las cañerías de derivación. En donde hay uso constante de la llave, basta con uno ó dos minutos; pero en el caso contrario, habrá que efectuar un lavado perfecto, dejando escurrir el agua durante diez ó más minutos. Lo de que se trata es tomar el agua tal como circula por las cañerías matrices, ó existe en los depósitos de abastecimiento. Trascurrido el tiempo que se juzgue suficiente, disminúyese la fuerza de la salida, cerrando poco á poco la llave; desátase la amarra del capuchón; y, retirado éste y la tapa de vidrio, recíbese el agua en el frasco hasta casi llenarlo, volviendo á taparlo con prontitud, sin necesidad de reponer la cubierta de algodón.

Ahora pueden presentarse dos casos: ó el laboratorio está inmediato, y entonces no hay necesidad de otra precaución que la de apresurarse á hacer la siembra, de acuerdo con cualquiera de los procedimientos que se describirán en seguida; ó bien, media distancia digna de tomarse en cuenta, por el tiempo que puede trascurrir entre la toma de la muestra y el instante de

hacer la siembra. Dos factores pueden entonces alterar los resultados, y son: en primer lugar, el tiempo durante el cual hay que guardar el agua en el frasco, y después la elevación de temperatura de la misma, circunstancias ambas que, obrando de consuno, son prodigiosamente favorables para el aumento ó multiplicación de los gérmenes. No cabe otro remedio para esto que, apenas recogida la muestra, colocarla con frasco y todo en un refrigerador portátil, de sencillísima construcción. No se trata sino de un triple receptáculo, compuesto de tres cajas cilíndricas, la más pequeña de las cuales, de metal delgado, está destinada á recibir el frasco con la muestra. El espacio existente entre la anteriormente indicada y la caja inmediatamente más grande, se rellena con hielo machacado; y el otro espacio anular con serrín de madera ú otro cuerpo mal conductor del calor. Los dos receptáculos exteriores pueden ser de mimbre, con lo cual se consigue la libre salida del agua proveniente de la fusión del hielo, á la par que protección contra los efectos de cualquier choque. En caso de necesidad, un simple tarro de metal, apropiado al tamaño del frasco, y una sencilla canasta pueden servir para arreglar un refrigerador provisional, suficiente cuando se trata de tres cuartos á una hora de tiempo para toda la diligencia de ir á buscar y de acarrear la muestra. Lo que se persigue con esta precaución es sencillamente paralizar la multiplicación de las microorganismos, la cuál es muy débil, nula, pudiéramos decir, á pocos grados sobre cero. Si el enfriamiento se lleva hasta la congelación, sólo perecen algunas especies vulgares, cuando aquella se prolonga por algún tiempo; las especies patógenas, como *v. gr.*, el bacilo tífico, son más resistentes á una congelación pro-

longada, como lo ha probado Michael Prudden, director del laboratorio del Colegio Médico de Nueva York.*

2º. *Aguas superficiales ú otras accesibles á la mano.*—Sea corriente ó estancada el agua que se halle en este caso, para tomar una muestra de ella puede servir un frasco como el descrito en el número anterior, y la operación se reducirá, una vez destapado, á sumergirlo hasta que se llene de agua, y á volverlo á tapar, siguiendo después en todo las prescripciones de estilo en cuanto á su conducción al laboratorio. Preferible es, según lo recomienda Miquel, esterilizar las frascos ó recipientes destinados á las muestras, envueltos completamente en papel grueso, el cual resiste bien la acción de la estufa esterilizadora. Para sujetar esta envoltura, basta lacrarla, después de enfriamiento, en dos ó tres puntos. De esta manera se consigue mantener el frasco perfectamente libre de gérmenes no sólo interiormente sino también por fuera, evitando posible aunque remota causa de error. Otra precaución más necesaria es la de apartar las basuras que pudieren haber en la superficie del agua, y si ésta es poco profunda, la de no remover el fondo al tiempo de sumergir el frasco.

3º. *Aguas de pozo, inaccesibles á la mano.*—También puede servir el mismo frasco cuando se trata de sacar una muestra de agua de un pozo, ó de otro depósito inaccesible á la mano, pero descubierto. Basta enlazar al cuello del frasco la extremidad de un hilo de cáñamo suficientemente largo, después de retirado el capuchón de algodón y la tapa de vidrio. Se arrea en seguida cautelosamente el cáñamo hasta que el

* *New York Medical Record*—Nos. del 26 de marzo y 2 de abril de 1889.

frasco, tumbándose sobre la superficie del agua, no tarda en llenarse. Si, por la naturaleza del frasco, se encontrase tropiezo para esta operación, nada más sencillo que precaverlo, poniendo junto con la lazada un pequeño contrapeso de plomo. Mejor todavía, es envolver al rededor del gollete, antes de la esterilización, una tira ó cinta de plomo, metal que resiste perfectamente el calor de la estufa, aunque la temperatura sobrepuje con mucho á la que hemos indicado como necesaria. La lazada puede también estar hecha de antemano y guardada debajo del capuchón preservador, de suerte que no habrá más cuerpo ó sustancia no esterilizada vecina al frasco, que la punta del cáñamo; pero ésta, adoptando la precaución indicada, quedará bastante lejos para que haya peligro de contaminación, sobre todo tratándose de una operación tan rápida como debe ser la de tomar una muestra de agua.

En suma, cualesquiera que sean las variantes de los tres casos generales apuntados, condición *sine qua non* será siempre la de evitar toda causa que pueda alterar en uno ú otro sentido la proporción de gérmenes que encierre un agua en el estado en que se desea estudiarla. El principio es este; pero el mecanismo, digámoslo así, de la operación no puede consistir simplemente en el empleo de los elementos que hemos señalado; en tal sentido hay variedad de procedimientos, unos más aplicables que otros, según las circuntancias, y la misma ingeniosidad del operador.

a. **Cuenta de los gérmenes por dilución del agua y su fraccionamiento en caldos.** [Método de Miquel.]

Una observación parecida á la anterior es indispensable antes de describir cómo se calcula por el método

enunciado la proporción de bacterias que encierra un agua. Queremos decir que los elementos materiales requeridos pueden variar según circunstancias muy diversas, pero que el principio aplicado será siempre el mismo. Comenzaremos por el procedimiento descrito por el Dr. Miquel en el Anuario de Montsouris correspondiente á 1888, procedimiento que hemos visto aplicado en sus detalles prácticos, en el Laboratorio de micrografía de la Caserne Lobau, merced á la bondadosa condescendencia de su sabio director.

Principio del método.—Consiste en diluir á $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{1000}$, etc., en agua esterilizada, una pequeña cantidad del agua en ensaye, de suerte que cada centímetro de la mezcla resulte con 10, 100, 1000, etc., veces menos gérmenes que los que hay en igual volumen de aquella ; en sembrar ó distribuir en seguida 1 cc., por ejemplo, del agua asi diluida en numerosas conservas de caldo nutritivo ; y en observar, después de algún tiempo de incubación, cuántos de los caldos se han alterado : el número de estos, multiplicado por el coeficiente de dilución dará, por fin, una idea bastante aproximada de la riqueza microórganica de la muestra.

Decimos aproximada porque hay dos causas de error que alteran las cifras verdaderas en el sentido de la disminución, á saber : (1) la existencia de gérmenes incapaces de multiplicarse en el medio nutritivo empleado, y (2) la posibilidad de que no ya uno sino dos ó mas gérmenes ó especies diferentes vayan unidos á alterar una sola conserva. Lo primero es imposible de evitar ó corregir, por desconocerse las necesidades nutritivas de las especies que no hayan brotado ; pero el segundo error puede corregirse, en parte á lo menos, observando al microscopio los caldos alterados, no

siendo difícil distinguir por este medio si se trata de un cultivo puro, ó bien de un cultivo mixto. Inútil es decir que un error por exceso no puede provenir sino de manipulación defectuosa.

El grado de la dilución debe calcularse para que en toda el agua sembrada no haya más gérmenes que conservas, pues en caso contrario todas éstas se enturbiarían ó alterarían, siendo así imposible cualquier cálculo. De aquí la necesidad de hacer algunos ensayes provisionales para tener una idea acerca de la riqueza micro-órganica del agua, y por consiguiente del grado á que debe llevarse la dilución. El método de las siembras en gelatina nutritiva es el camino más fácil para llegar á este conocimiento previo ; pero como el número de especies capaces de desarrollarse en dicho medio, á la temperatura relativamente baja en que hay que emplearlo, es muy inferior al de las que pueden germinar en los caldos, necesario es conocer la relación aproximada que existe entre las sensibilidades correspondientes á ambos medios. Nada más que como vaga indicación puede decirse que entre el caldo gelatinado y el caldo líquido (caldo de buey, esterilizado por el calor) se puede estimar esa relación como 1 es a 20 ó 30, limitado á tres días el cultivo en el primer medio.

Sea mediante este recurso, sea apelando á la operación mucho mas laboriosa de hacer una verdadera siembra en caldo, el hecho es que antes del ensaye ó cuenta definitiva es necesario tener una noción cualquiera acerca del punto que nos ocupa, pues para la exactitud de dicha cuenta no basta que sobren algunas conservas de caldo sin alterar, sino que es además indispensable que el número de las alteradas no pase

de un tercio más ó menos de las inoculadas con la dilución. Unicamente dentro de este límite se va disminuyendo la posibilidad de que dos ó más especies puedan ir á un sólo caldo.

*Detalles prácticos.**—El análisis de las aguas por el método del fraccionamiento exige dos operaciones: la dilución y la distribución del agua diluida.

Para diluir el agua, el Dr. Miquel emplea matraces de una capacidad variable entre 30 cc. y 2 litros (véase M, Fig. 60); cada uno de estos matraces tiene la

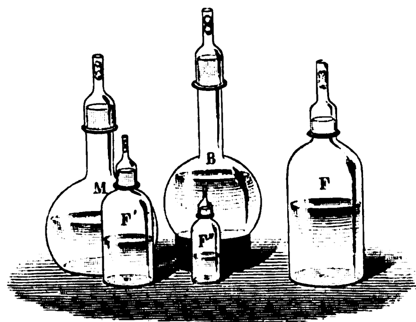


Fig. 60.—Frascos con agua esterilizada para las diluciones de las aguas en ensaye.

extremidad de su cuello tapado por un capuchón esmerilado, de ajuste hermético y con una espiga hueca ó chimenea cegada por una mota de algodón ordinario; por su forma, son estos vasos muy estables, y la agitación del líquido se produce en ellos en mejores condiciones que en los de frascos cilíndricos. Medio llenos de un volumen conocido de agua destilada, esterilízanse estos matraces en el autóclave durante una hora á la temperatura de 110°; debe tenerse

* *Ann. de l'Obs. de Mont.*, 1888.

siempre lista una serie de matraces así preparados, cada cual con un excipiente libre de gérmenes. En el autóclave estos vasos no pierden peso de una manera apreciable, lo que evita tomar en cuenta el agua que pudiera suponerse perdida en forma de vapor durante la esterilización.

Antes de la dilución, agítase vivamente el agua en análisis, y en seguida se toma de ella la necesaria cantidad por medio de pipetas graduadas ó calculadas como se recomienda más adelante. Conviene tomar el total, no de una vez sino en varias operaciones, como *v. gr.*, por cuartos de centímetro cúbico cuando se trata de 1 cc., lo que permite tener una muestra media, resultante de cuatro muestras parciales tomadas de diversos puntos de la masa líquida.

Las pipetas se esterilizan durante una hora en baño de aire calentado á 200°. Para precaverlas de toda contaminación, se guardan en largos tubos de ensaye cerrados con un tapón de algodón (Fig. 61); si el cuello

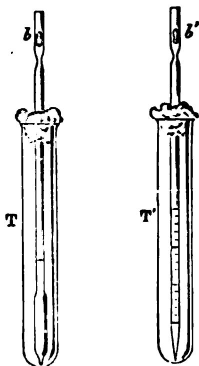


Fig. 61.—Pipetas para las siembras, esterilizadas dentro de tubos de ensaye.

de la pipeta es muy largo se puede sin inconvenientes dejar que sobresalga arriba del tapón. Al llegar el caso, inflámase el algodón, y se retira en seguida la pipeta de su estuche protector. Todas estas pipetas son estranguladas en la parte superior, y tapadas con una mota de algodón de vidrio que ataja todas las impurezas del dedo y del aire ambiente.

Para el fraccionamiento gota á gota del agua diluida, las pipetas graduadas por divisiones ó rayas sobre el vidrio no son de uso muy recomendable. Por exigir esa operación un ejercicio previo del dedo, durante el cual pueden escaparse del aparato varias gotas, es preferible emplear pipetas lisas hechas de un simple tubo de vidrio estirado, cuya abertura capilar deje escapar como 25 gotas por gramo. Uno mismo puede hacer estos pequeños instrumentos, rechazando todos los que den arriba de 240 á 260 gotas de agua destilada por 10 gr. Estas pipetas con su correspondiente mota de algodón de vidrio, pueden esterilizarse en cantidades —100 á 200, por ejemplo—en un vaso para precipitados, con las puntas hacia abajo enterradas en una gruesa capa de algodón de vidrio. Al tiempo de servirse de ellas, se pasan rápidamente sobre una llama, á fin de quemar las partículas exteriores.

Como conservas, empléanse en el laboratorio del Dr. Miquel los pequeños frascos de 15 cc., de M. Freudenreich, medio llenos de caldo esterilizado (Fig. 62), y dispuestos en número de 36 en dos cajas con compartimentos. Un ayudante va tomando sucesivamente cada frasco, lo pasa á la llama y lo abre; el operador deja caer en el frasco 1, 2, ó 3 gotas, según los casos, y el ayudante lo cierra, volviendo á colocarlo en su lugar; y así con los demás, hasta el fin de la distribu-

ción, que debe practicarse renovando tres ó cuatro veces el agua de la pipeta.

El fraccionamiento del agua en 72 conservas exige más ó menos quince minutos, las diluciones cinco minutos; de manera, pues, que en veinte minutos se



Fig. 62.—PEQUEÑO FRASCO CON CALDO ESTERILIZADO PARA LAS SIEMBRAS FRACCIONADAS.

puede practicar un análisis por el procedimiento que acaba de describirse.

Las siembras se colocan, por último, en la estufa de cultivos mantenida entre 30 y 35°, por un tiempo que no debe bajar de dos semanas.

Modificaciones del método anterior.

El método de Miquel, tal cual queda descrito, exige un material especial y costoso, aunque indudablemente el más adecuado al objeto. En su lugar puede emplearse la modificación que se indica en seguida, ó la de Fol, descrita más adelante, no con el fin de simplificar las manipulaciones, sino con el de poder emplear otros útiles en la dilución y el fraccionamiento. Hemos aplicado estas modificaciones únicamente al agua de El Salto, pero esto ha bastado para cerciorarnos de que á falta de elementos más acabados y cómodos, puede hacerse con los que van á describirse, la cuenta de los gérmenes sin ninguna dificultad ó

inconvenientes, como no sean los inherentes al método general mismo.

Dilución del agua.—Se tiene de antemano apercibida una serie de frascos comunes (de tapa esmerilada, y también con su correspondiente capuchón de algodón) á poco más de medio llenar de agua esterilizada. Pueden ser de dos tamaños: unos con 9 cc. de agua, otros con 99 cc. (ó 100 cc., que la diferencia sería insignificantísima). La manera de esterilizar esas porciones de agua, destilada ú ordinaria, se reduce á colocar los frascos tapados en la esterilizador á vapor á 100°, dejándolos allí el tiempo suficiente para que toda la masa líquida de cada frasco haya adquirido esa temperatura por lo menos media hora. Esto dependerá, naturalmente, del volumen de cada porción. Si alguna vez se tratara de esterilizar frascos con 500 ó 1000 cc., no es seguramente suficiente el tiempo señalado, por lo que conviene prolongar la acción por tres cuartos, una hora, ó en fin el tiempo que se estime prudente en cada caso, sin perder de vista lo que hemos dicho acerca del *coeficiente de seguridad*, para esto de la esterilización. Es claro que en un autóclave, y á la temperatura de 110 á 115°, la operación tendrá que ser más rápida; pero si indicamos el anterior procedimiento es con el fin de no hablar sino de los aparatos más sencillos, pero siempre eficaces.

Como medida preventiva, antes de colocar y de amarrar el capuchón de algodón, es bueno también amarrar fuertemente con una hebra de cañamo delgado, la tapa de vidrio con el gollete del frasco. Así se evita la posibilidad de que éste se destape por la expansión del aire interno durante la esterilización, y que volviéndose á tapar se forme en él, después de enfriado, un vacío

más ó menos perfecto, debido á la condensación del vapor.

Suponiendo que se tenga una regular provisión de estos frascos esterilizados, la operación de diluir el agua se hace de acuerdo con lo explicado para el procedimiento anterior, esto es en cuanto se refiere á asegurar homogeneidad en la mezcla, y á resguardo de todo error y de contaminación extraña, gracias al empleo de pipetas perfectamente calculadas y esterilizadas. Si no, puede adoptarse el camino de una doble dilución, por ejemplo en esta forma : 1 cc. de la muestra de agua se diluye, con todas las precauciones del caso, en uno de los frascos con 9 cc. de agua esterilizada ; en seguida, un centímetro de la mezcla resultante se diluye, á su turno, en otros 9 cc. de agua, ó bien en uno de los frascos de 99 cc. ó, todavía, en otro de mayor capacidad si lo hubiere, obteniéndose para cada caso una dilución proporcional. Otra combinación sería diluir desde luego el centímetro de agua en 99 cc. de la esterilizada, y repetir la operación con 1 cc. de la mezcla ; así se obtendría una dilución á $\frac{1}{10000}$.

Fraccionamiento.—Hay dos maneras de hacerlo. La primera es la reproducción exacta, como *modus operandi*, de lo dicho para el caso de disponer de los frascos con capuchón esmerilado (Fig. 62), con la diferencia de usarse tubos de ensaye, de mediano tamaño, cerrados con el tapón usual de algodón, y enfilados en soportes como el representado en la Fig. 63. Estos soportes, que cualquier hojalatero puede fabricar, no deben ser soldados en parte alguna, sino armados con ligaduras de alambre, visto que deben pasar frecuentemente por la estufa de esterilización.

Los tubos medio llenos de caldo que van á servir

para la siembra fraccionada, deben haber pasado por la prueba reglamentaria de la incubación á 35° durante dos semanas, más ó menos. La evaporación durante este tiempo es pequeña, con tal que los tapones entren algo apretados; pero, como deben venir otros quince días de estufa á la misma temperatura, bueno es durante la prueba á lo menos, cerrar los tubos por encima del algodón, con casquetes de goma elástica.

La siembra se ejecuta como se explicó anteriormente: un ayudante pasa á la llama, y destapa en seguida, uno de los tubos, y el operador vierte en él una gota ó más (cantidad conocida) de la dilución recién hecha; y así con los demás tubos hasta completar la serie de 30, por ejemplo. Otra serie se inocula variando la proporción de agua diluida, empleada en el primer caso para cada tubo. Haciendo la operación con destreza, al abrigo de corrientes de aire, y en una pieza que no se haya

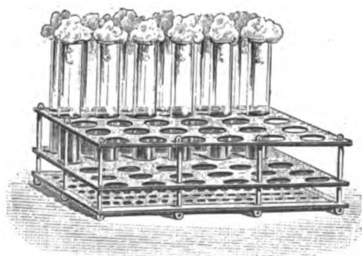


Fig. 63.—Soporte con tubos medio llenos de caldo para siembras fraccionadas.

acabado de barrer, redúcense á su mínimum las probabilidades de infección de los tubos por gérmenes extraños á los contenidos en el agua sembrada.

Como ejemplo diremos que si de una dilución á $\frac{1}{10000}$ se han sembrado 30 gotas, á razón de una gota

por tubo, equivalentes á 1·10 cc. p. ej., y que 7 tubos se han enturbiado ó han manifestado signos de germinación en otra forma después de la incubación de estilo, entonces el número de gérmenes por 1 cc será de $\frac{10000 \times 7}{1 \cdot 10} = 6363$ aproximadamente.

Método de Fol.—La otra manera de practicar el fraccionamiento consiste en sembrar una pequeña cantidad de la dilución directamente en un volumen mas ó menos grande de caldo, y en fraccionar en seguida este caldo en 20, 30 ó mayor número de tubos esterilizados.

El utensilio indispensable para esta operacion es una bureta de 100 á 150 cc. de capacidad, graduada á partir de la cerradura inferior, obtenida por medio de la pinza P' (Fig. 64). La parte superior de la bureta termina de una

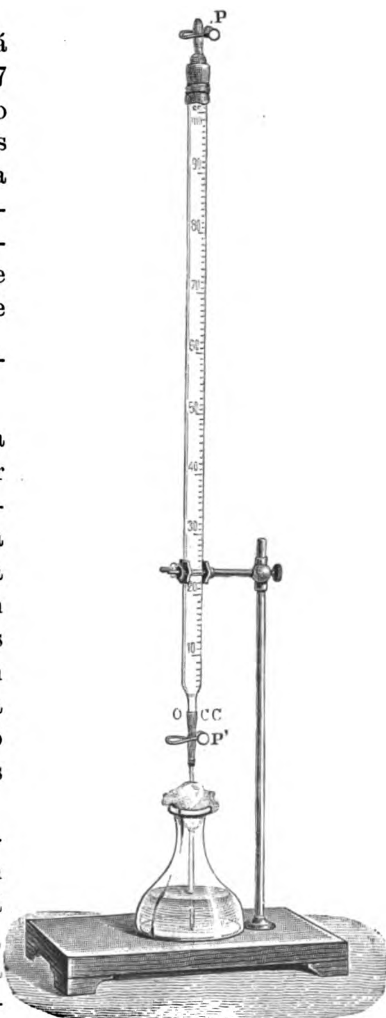


Fig. 64.—Modo de llenar la bureta para el fraccionamiento por el método de Fol.

Hecho el vacío por condensación del vapor de agua en la bureta, sube el caldo por la diferencia de presión.

manera análoga, es decir en una espiga unida á un trocito de tubo de caucho con su correspondiente pinza (P). En defecto de un instrumento todo de vidrio y de una pieza, puede arreglarse una bureta enteramenta abierta arriba, adaptándole un casquete metálico terminado en una espiga hueca, á la cual pueda agregarse un trocito de tubo de goma para la pinza. El casquete se ajusta á la bureta por medio de un grueso y corto tubo de caucho, que para mayor perfección de cierre, se amarra fuertemente de cada lado. A la extremidad inferior de la bureta se añade una cánula como la descrita en el capítulo anterior, con lo cual queda lista la bureta para su esterilización y recibir en seguida el caldo.

La esterilización se lleva á cabo en esta forma: se envuelve apretadamente la bureta, dejando libre únicamente sus extremidades, en un paño de franela de lana ó de otra tela de material mal conductor del calor; se une el tubo de la pinza P al sifón de la marmita esterilizadora (Fig. 22) cuando el termómetro de la misma indique que el agua de que está casi llena alcanza de 110 á 112° más ó menos; se mantiene inclinada la bureta con la cánula hacia abajo y, después de retirar la pinza P', se aprieta cautelosamente la de arriba, sin retirarla del todo al principio, para dar paso al vapor que con fuerza saldrá de la marmita, yendo á condensarse, en los primeros momentos, sobre las paredes enfriadas del vidrio. Al cabo de unos cuantos minutos cesa toda condensación, y sólo sigue escapándose por la abertura de la cánula un delgado pero enérgico chorro de vapor, cuya temperatura, antes de salir, no puede bajar de 100°, gracias á las precauciones adoptadas.

Diez minutos á un cuarto de hora bastan para esteri-

lizar perfectamente y de extremo á extremo el aparato, sin necesidad de la previa desinfección por medio del anhídrido sulfuroso, como recomienda Fol.* Trascurrido el tiempo necesario, se reduce un poco la fuerza del vapor disminuyendo la del gas, y se colocan las pinzas en su lugar: *primero la de abajo*, y despúes la de arriba, á fin de que el tubo quede lleno de vapor, que al condensarse por el enfriamiento produce en el interior, entre las pinzas P y P' un vacío casi perfecto. Antes de desunir el sifón, tiénese lista una mota de asbesto ó de algodón de vidrio, perfectamente esterilizada, que en el momento preciso de la desunión se embute en la abertura del tubo de goma.

La operación subsiguiente, la de llenar con caldo este receptáculo, se hace disponiéndolo en la forma que indica la misma figura 64. Se monta la bureta en un soporte á propósito y, después de pasar la cánula por la llama, se introduce en el matraz de caldo, á través del tapón, si es de los especiales, ó entre el algodón y el vidrio si es de los comunes. Abriendo en seguida la pinza P, sube el líquido á causa de la diferencia de presión, y una vez que ha entrado á la bureta el volumen requerido de 90, 100 ó más centímetros cúbicos de caldo, se vuelve á cerrar la pinza. Siempre debe quedar un espacio libre como de 20 á 25 cc. para que, al agregar la pequeña cantidad de la dilución, sea fácil conseguir una mezcla perfectamente homogénea, invirtiendo repetidas veces la bureta con el líquido.

Para practicar la agregación á que acabamos de hacer

* Hemos dejado, como prueba, buretas llenas de caldo después de esterilizadas por el vapor; al cabo de varios meses, incluso los de verano, no han manifestado signo de alteración, á pesar de que el caldo conservaba su sensibilidad ordinaria.

referencia, un ayudante retira con cuidado, por medio de unas pinzas pasadas á la llama, la mota de asbesto ó de algodón de vidrio que se ha puesto en el tubo de goma, inmediatemente encima de la pinza ó apretador P, al tiempo de terminar la esterilización de la bureta, y retira también la pinza; por entre la abertura resultante introduce entonces el operador la extremidad de la pipeta que en ese mismo momento habrá llenado con una cantidad conocida de la dilución, y vacia todo el contenido sobre el caldo. Se vuelve á colocar la pinza y se hace la mezcla como se dijo.

No queda sino que efectuar la distribución ó fraccionamiento del caldo recién inoculado. Para esto hay que tener listo uno de los estantes con tubos vacíos y esterilizados, en número de 25, 30 ó más, é ir introduciendo en ellos, uno tras otro, la cánula debidamente esterilizada á la llama cada vez, y dejando caer cuatro ó cinco centímetros cúbicos de caldo, según sea la capacidad de la bureta y el número de tubos. Por esto, si el volumen total alcanza á 120 CC., y la serie es de treinta tubos, corresponderán 4 CC. á cada tubo.

EJEMPLOS.

1. Un centímetro de dilución á $\frac{1}{10}$ de agua de El Salto, fué agregado á 100 cc. de caldo en la bureta. Repartida la mezcla en 25 tubos, á razón de 4 cc. por tubo, más de la mitad dieron señales de alteración antes de trascurrir ocho días; luego la dilución no era aún suficientemente débil.

2. Un centímetro de la misma agua, diluida á $\frac{1}{100}$ fué sembrado en las mismas condiciones anteriores. A los ocho días de incubación á 35° no habían alterados sino 6 tubos, y como 8 días más tarde los caldos restantes permanecieran inalterablemente claros, se dedujo que la mencionada agua contenía al rededor de 600 gérmenes por centímetro cúbico. El término medio de varias siembras practicadas en igualdad de circunstancias para todo el

curso de las operaciones, comenzando por la toma de las muestras, fué de 700 gérmenes por centímetro.

b. **Método de los cultivos en jaletina.** [Método de Koch.]

El examen bacteriológico de las aguas por medio de siembras en gelatina nutritiva no es sino la aplicación particular del método más general [*v*. Cap. XII., p. 264] ideado por Koch en 1883 para aislar y cultivar los microorganismos en estado de pureza, vengan de donde vinieren. Aplicado puramente al examen estadístico ó numérico de las bacterias que pueda contener un agua, el método de la gelatina queda por debajo del de las siembras en caldo, dada la proporción muy escasa del número total de gérmenes existentes, que alcanzan á brotar en el primero de estos medios nutritivos, en igualdad de tiempo para ambos. Con todo, si se toman sus resultados como meros índices, así como se procede en la estimación cuantitativa de la materia orgánica, en nada ceden entonces como valor comparativo á los que se obtengan por el procedimiento más numéricamente aproximado del fraccionamiento en líquidos muy nutritivos.

Cada uno de estos dos métodos generales tiene sus ventajas y sus inconvenientes: el de los caldos procura en menos tiempo nociones más precisas acerca del verdadero número de gérmenes contenidos en un volumen dado de agua, pero se presta menos al aislamiento de los mismos para su examen cualitativo; en tanto que el método de la gelatina, inferior en el primer respecto, permite averiguar de un modo más rápido y sencillo si existen ó no en el agua examinada las especies cuya presencia en ella nos interesa ante todo averiguar.

Detalles del método de la gelatina.—El resumen de

las operaciones que abarca un ensaye del agua por el método de Koch es el siguiente: (1) á una cantidad dada de gelatina nutritiva y esterilizada, hecha fluida por un suave calor, se agrega una pequeña cantidad dada del agua en ensaye, en su estado natural ó diluida; (2) se mezclan ambos fluidos de una manera homogénea; (3) se vacia la mezcla, extendiéndola sobre planchas de vidrio muy limpias y esterilizadas, y se la congela por enfriamiento rápido; (4) se dejan en seguida estas planchas de cultivo á una temperatura uniforme é inferior al punto de fusión de la gelatina, en una atmósfera húmeda, y enteramente al abrigo de toda contaminación por gérmenes del aire ó de otro origen: al cabo de dos días, más ó menos, muchos de los microorganismos que habían en el agua sembrada, y que han quedado individualmente aprisionados y uniformemente distribuidos en la masa gelatinosa, se habrán desarrollado lo bastante para que á ojo desnudo se vean sus aglomeraciones en forma de puntos blanquizcos, ó de espacios de gelatina licuada,—dos aspectos típicos principales de esos grupos ó "colonias"; (5) por fin, después de cierto tiempo que se adopta como lapso comparativo, se cuentan las colonias, si se trata de un examen simplemente estadístico, ó bien, desde que comienzan á brotar, se examinan, y estudian en toda forma, para establecer su carácter específico.

Entraremos en los detalles prácticos siguiendo punto por punto la anterior sinopsis de las operaciones.

(1) *Agregación del agua á la gelatina.*—Se adopta con uniformidad un mismo medio nutritivo, si se quiere que los resultados sean siempre comparables entre sí. La jaletina de caldo natural, ó caldo gelatinado, es un

medio muy á propósito. El punto que hay que considerar, seguidamente, es el relativo á la cantidad de jaletina que es menester para cada siembra. Esta cantidad puede variar bastante, dependiendo de la de agua que se siembre, de la forma y tamaño de las planchas ó recipientes para el cultivo, etc.; pero como es necesario precisar un límite, para que sirva de guía, diremos que de 10 á 12 cc. es una porción muy apropiada para extender en capa de espesor conveniente, sobre una superficie de 100 centímetros cuadrados, y que esta superficie puede repartirse entre dos ó tres planchas. Se puede tener de antemano una buena prevención de tubos, á medio llenar cada uno con la indicada cantidad de gelatina. Estos tubos deben ser cortos con relación al diámetro, para facilitar la mezcla que en ellos se hace al agregar el agua. Los tubos que se necesiten para una operacion se calientan en agua á 40 ó 50 grados por unos cuantos instantes, hasta fundir el contenido.

El agua debe sembrarse en volumen también constante ó sensiblemente constante cada vez, pues de otro modo la jaletina, como consistencia, no quedaría siempre uniforme. Medio centímetro cúbico es cantidad proporcionada á la del medio nutritivo y fácil de manejar. El agua se siembra tal cual ó diluida, si bien la dilución no necesita ser llevada tan lejos como para los caldos, visto que el medio nutritivo es ahora mucho menos favorable á la germinación de las células. Punto es este que dependerá del conocimiento que se tenga sobre la riqueza del agua en microorganismos. Si no existe conocimiento previo acerca de este particular, no queda otro recurso que comenzar por una siembra al tanteo; ó bien, si no hay lugar para espera, ni

oportunidad de repetir el ensaye, hacer á la vez una serie de siembras con la misma agua, en diversos grados de dilución. En cuanto á la manera de tomar y de medir el líquido de las siembras, y de verterlo en los tubos de jaletina hecha fluida, aplícase á ello todo lo dicho con análogo propósito al describir el método del fraccionamiento en caldos.

Observación importante es la de que no se debe tratar de utilizar para ninguna siembra, jaletina de tubos que después de esterilización hayan sido destapados expresa ó fortuitamente, aunque el aspecto de la conserva sea de completa limpieza. En efecto, muchas veces los tubos que han sido contaminados accidentalmente, dan señales de la contaminación en forma de colonia—licuante ó sólida—bastante desarrollada para ser visible á la simple vista, y por lo tanto se les pone á un lado para lavarlos; otras veces, sin embargo, la colonia se reduce á un insignificante puntito blanco, muy difícil de descubrir, y que se detiene en su desarrollo sin pasar de esa dimensión. Mas, si se funde la gelatina con el objeto de hacer una siembra en ella, creyéndola incólume, resulta que á los dos ó tres días el cultivo toma un aspecto lechoso, debido á innumerables pequeñísimas colonias correspondientes á otras tantas células en que se ha subdividido la colonia madre. Hemos calculado aproximadamente su número en más de un millón. Innecesario decir que la siembra se pierde por completo.

(2) *Mezcla.*—Se necesita, ahora, repartir homogéneamente el agua sembrada en la jaletina fluida. Ante todo es menester evitar cualquier sacudida, á fin de que no se forme espuma, cosa que dificulta la dilución regular del agua. Para facilitar la mezcla, bueno es valerse de

una paletita de platino, bastante larga para que alcance hasta el fondo del tubo. Con un poco de destreza la operación queda concluida satisfactoriamente en pocos instantes, lo que es necesario para reducir en cuanto se pueda la probabilidad de que caigan al tubo gérmenes atmosféricos. Un simple alambre de platino ó una varilla de vidrio muy delgada bastarían, pero como el mismo utensilio está destinado á repartir en capa uniforme la jaletina sobre las planchas de cultivo, preferible es la forma de paleta en una de las extremidades.

(3) *Extensión de la mezcla.*—Esta operación se hace sobre planchas de vidrio esterilizadas que de antemano se tienen dispuestas sobre una superficie fría y perfectamente á nivel, doble condición que se obtiene por medio del aparato de que se hablará más adelante. Las planchas de vidrio, á más de esterilizadas deben haber sido previamente lavadas del mejor modo posible, primero con ácidos enérgicos, ó con una mezcla de bicromato de potasio y ácido sulfúrico, para destruir la materia orgánica fuertemente adherida, y después á toda agua, para terminar la limpia con la pasada de un trapo empapado en alcohol ó éter. En suma, cualquiera de los procedimientos usados para limpiar las planchas destinadas á usos fotográficos, es aplicable, aunque con rigor menos extremo en el caso que nos ocupa. El tamaño más apropiado para las planchas es más ó menos el correspondiente al $\frac{1}{4}$ de plancha fotográfica (9 × 12 ctms.); más grandes son de difícil manejo, sobre todo si se quiere colocarlas sobre la platina del microscopio para examinar las colonias con un débil aumento. Se aguarda, para vaciar la mezcla, el momento en que la jaletina empiece á adquirir

consistencia adecuada,—ni muy fluida ni muy espesa, pues en el primer caso es muy difícil impedir que se corra hacia los bordes del vidrio, por bien nivelado que éste se halle; y en el segundo resultan otros inconvenientes, no tanto por causa de dificultad en la distribución, cuanto por quedar adherida al tubo y al agitador, fracción no despreciable de la mezcla. Se deja un margen de vidrio sin cubrir, como de un centímetro, en todo el rededor de la plancha. Cuando la temperatura del ambiente es inferior á 20°, no tarda la jalea en congelarse. Por lo general, sin embargo, á lo menos en el verano y en nuestro clima, es muy difícil conseguir la rápida solidificación de la jalea sin recurrir á enfriamiento artificial. La Fig. 65 representa,

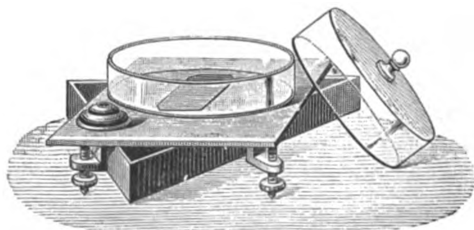


Fig. 65.—Aparato para congelar las siembras en jaletina.

no precisamente al aparato mismo que en los laboratorios se emplea con tal propósito, sino el empleado con igual fin para los cultivos en portaobjetos. Basta, sin embargo, para hacer comprender la disposición general que sirve para obtener la congelación deseada. En lugar de una superficie nivelada cualquiera, se emplea una gran plancha de vidrio colocada sobre un trípode en forma de caja, la cual se puede llenar hasta los bordes con una mezcla frigorífica, p. ej. de nieve ó hielo con sal marina. Sobre la gran plancha se colocan

directamente las de cultivo. Un nivel en forma de ampolla, sirve para la nivelación del aparato. Mientras se cuaja la jalea, precávesela de infección por gérmenes caídos del aire, cubriéndola con una tapadera ó campana de vidrio.

(4) *Incubación de las siembras.*—En el supuesto de que éstas se hacen en jaletina extendida sobre planchas rectangulares de vidrio, después de retiradas del soporte provisional en que se las dejado nada más que con el fin de provocar la solidificación de la jaletina, es necesario ponerlas en las condiciones adecuadas de temperatura y de humedad, tal como lo indica la fig. 66. Una misma cámara húmeda formada por una gran tapadera cilíndrica de vidrio, ú otra cubierta análoga, puede servir, como se ve, para varias planchas, si se

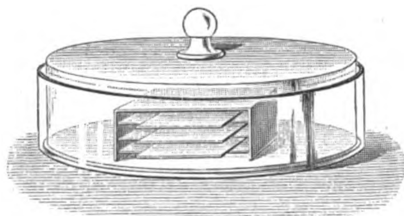


Fig. 66.—CÁMARA HÚMEDA Y DISPOSICIÓN DE LOS CULTIVOS EN PLANCHAS.

colocan superpuestas en un estante *ad hoc.* Todo lo dicho con respecto á las temperaturas en el capítulo sobre los métodos generales es aplicable en este caso particular, no faltando sino agregar que la humedad necesaria se obtiene mojando ligeramente las paredes internas del receptáculo.

Para los fines que se persiguen con el examen estadístico, basta limitar á tres ó cuatro días la incubación

de los cultivos, no porque dentro de este tiempo hayan brotado todas las colonias capaces de desarrollarse en la gelatina nutritiva á la temperatura media que se adopta, sino porque en la mayoría de los casos, antes de trascurrido este lapso de tiempo, las especies licuantes se han extendido hasta confundirse unas con otras, en especial si su número es relativamente grande. Esta acción invasora de las dichas especies puede detenerse, como lo indica Bischoff,* colocando en el centro de la colonia una partícula de material antiséptico, por ejemplo permanganato de potasio ó hierro esponjoso; pero si este arbitrio tiene mucha utilidad en casos aislados y especiales,† no lo tiene como sistema para la investigación que nos ocupa, pues equivale á introducir una nueva complicación, fuera de las inherentes á la atenta vigilancia que requieren los cultivos, bastante seria cuando hay que habérselas con siembras simultáneas de varias aguas.

A pesar de esta limitación de tiempo, no es raro encontrarse con que para algunas aguas el lapso es excesivo, vista la extraordinaria rapidez con que se licúa la gelatina de la siembra respectiva. La Pl. IX. es un fotograma directo de un cultivo de esta naturaleza, correspondiente á la tercera parte de una siembra hecha con $\frac{1}{100}$ cc. de un agua de pozo; las colonias se hicieron confluentes antes de las 36 horas, imposibilitando toda cuenta. En estos casos no queda más remedio que eliminar de la comparación el cultivo

* *Chemical News*, t. LVII., p. 15, 1888.

† Por ejemplo, cuando se trata de preservar otras colonias para su detenido estudio, ó de aguardar á que broten las de muy lento crecimiento en la gelatina nutritiva.

perdido, y hacer una nueva siembra con agua todavía más diluida.

(5) *Cuenta de las colonias.*—Cualquiera que sea el tiempo que se deje trascurrir para hacer la cuenta, requiere ésta ciertas precauciones cuando el número de colonias brotadas es considerable, y la plancha se halla densamente cuajada de ellas. No hay que pensar entonces en contarlas una á una, como es fácil hacerlo cuando se trata de unas cuantas colonias por centímetro cuadrado, sino que debe recurrirse al espediente de determinar del modo más aproximado el número de colonias por unidad de superficie, y multiplicar en seguida este número por la superficie total. Ateniéndose al anterior resultado, al número de planchas en que se ha repartido la siembra, y á la fracción de dilución, se averigua el número aproximado de gérmenes correspondiente á 1 CC. del agua ensayada, cantidad que se toma generalmente como término de comparación.

El medio más primitivo de hacer práctica la cuenta anterior, es colocar la plancha de cultivo sobre una superficie de fondo negro con cuadrículas blancas. Una lente de aumento facilitará mucho la operación. Además, es muy conveniente la interposición, á unos cuantos milímetros sobre la gelatina, de una plancha de vidrio perfectamente limpia y transparente, tanto para evitarse, en unos casos, las emanaciones generalmente pútridas del cultivo, como en otros, para preservar á éste de los gérmenes del aire, si es que se desea y se puede prolongar la incubación.

Mucho más sencillo, rápido y exacto es el procedimiento de recurrir á la fotografía para hacer la cuenta de las colonias. Decimos rápido, á pesar de la operacion intermedia de hacer un negativo y su reproducción

en papel, aunque ésta no sea indispensable, porque dada la sencillez á que se han reducido las manipulaciones fotográficas, todo ese trabajo es menos fastidioso que el hacer una cuenta á ojo, y á la vez las anotaciones necesarias para no confundir después unos datos con otros. Además, la prueba fotográfica es siempre un documento irrecusable, y equivale á tener constantemente á mano el cultivo mismo de que es imagen fiel, para verificar en cualquiera época los datos obtenidos.

La manera de hacer la fotografía de una plancha de cultivo, que necesariamente debe permancer horizontal á fin de que no se corran las colonias licuantes, consiste en colocar la cámara con el objetivo hacia abajo. Pero si se ha arreglado un banco fotográfico como el que hemos indicado para la fotomicrografía, nada es mas fácil que disponerlo en un instante para la fotografía de los referidos cultivos. La fig. 67 representa, no la posición exacta de las partes, pero sí la disposición general de los pocos elementos que se necesitan para fotografiar las planchas de cultivo colocadas horizontalmente. El portaluz L E (que no es sino uno de los que existen en todo laboratorio ó gabinete de física), mediante dos escuadras ó consolas de fierro que le sirven de sostén, puede correrse hacia atrás ó hacia adelante, fuera de que el espejo E tiene el doble movimiento de estilo. A C es un receptáculo hueco, pintado interiormente de negro (para obtener un fondo absolutamente oscuro ó sea el "negro Chevreul"), sobre el cual se coloca una plancha de madera A perforada circularmente. Este espacio puede estar atravesado por hilos muy finos, equidistantes, que se crucen en ángulo recto formando cuadrículas, para que junto con las colonias sean fotografiadas á través de la

capa gelatinosa transparente. Moviendo el espejo hasta colocarlo en la posición debida, la imagen del cultivo y de las cuadrículas va á formarse sobre el vidrio delus-

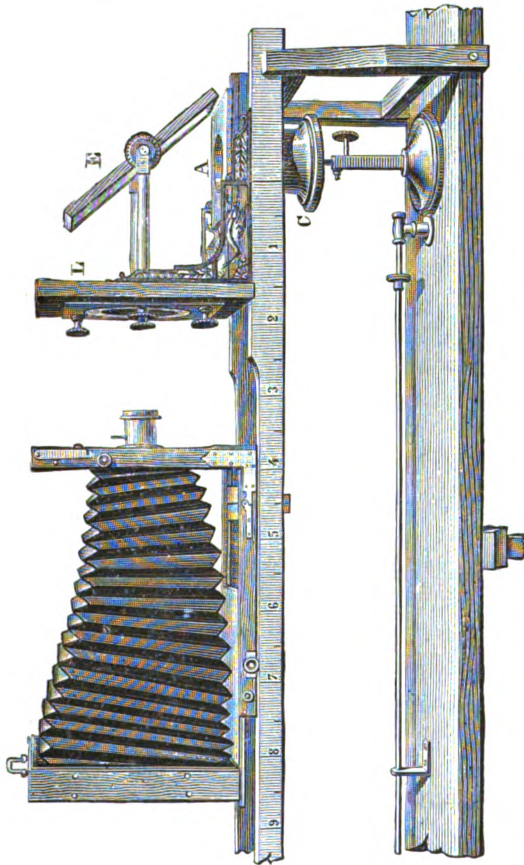


Fig. 67.—Disposición del banco fotográfico, para fotografiar las planchas de cultivo.

L E, portaluz que se puede correr sobre el banco fotográfico—A, marco sobre el cual se coloca la plancha con el cultivo, y que descansa sobre un receptáculo hueco pintado interiormente de negro—C, soporte para el receptáculo y la plancha.

trado de la cámara, del tamaño natural, mayor, ó menor, según sea la distancia que medie entre el centro del espejo y la plancha ó cubeta del cultivo. Gracias

al empleo de diafragmas pequeños, los diferentes planos en que se encuentran las colonias quedan en foco.

Un prisma de reflexión total sería mucho mejor que el espejo; pero no es fácil hallarlo del tamaño requerido, por lo cual el portaluz ú otro espejo análogamente colocado es lo más práctico.

Modificaciones del método anterior.

En lugar de las planchas rectangulares y de una cámara húmeda común para varios cultivos, pueden adoptarse otras formas y disposiciones de aparatos que llenen el mismo fin. Es ventajoso, por ejemplo, el empleo del pequeño receptáculo que hemos indicado para guardar los cultivos en papas, aplicado á los cultivos en gelatina. [Fig. 35, p. 261.] La ventaja consiste en que cada cultivo se puede manejar individualmente, sin necesidad de exponer á contaminación los demás cuando es menester examinar uno solo. Antes de tapar una siembra recién hecha, se pasa un instante el embudo que sirve de cubierta, por encima de un recipiente con agua hirviendo; se condensa así sobre el vidrio pequeña cantidad de vapor, que sirve para mantener en el interior la humedad necesaria.

En los cultivos en planchas se tropieza á menudo con el fastidioso inconveniente de que la jalea fundida se corre hasta el borde del vidrio, á veces mientras se trata de extenderla, otras, á causa de sacudida accidental, ó en fin por desnivel de la plancha. Este inconveniente se evita siempre, trazando de antemano sobre los vidrios perfectamente lavados y listos para esterilizar, un contorno paralelo á la orilla, con lápiz de escribir sobre vidrio. La línea trazada, de uniforme y compacto relieve, sirve de barrera eficaz á la jaletina,

aunque ésta se halle en un estado de fluidez que la haría de imposible manejo sin la precaución señalada. La composición del lápiz, al parecer con base de talco, es inalterable á la temperatura de esterilización. La Fig. 68 representa el modo de preparar en esa forma

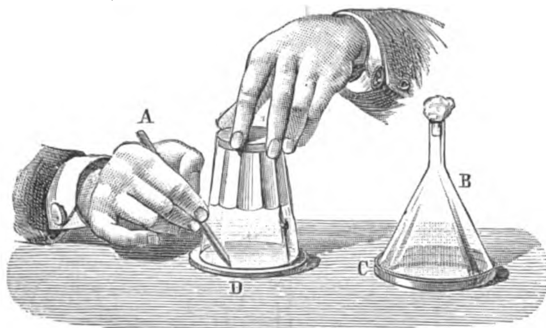


Fig. 68.—PREPARACIÓN DE LAS PLANCHAS DE CULTIVO, PARA EVITAR EL DERRAME DE LA JALETINA.

los discos de vidrio de la cámara húmeda portátil á que hemos hecho referencia.

Otro sistema que reune todas las ventajas de los anteriores, sin poseer sus inconvenientes, es el de

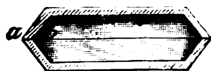


Fig. 69.—SECCIÓN DE DOS PLATILLOS DE VIDRIO SUPERPUESTOS, PARA CULTIVOS EN JALETINA.

emplear cubetas de fondo plano, adjustadas ó combinadas de dos en dos como lo indica la figura 69. Como en caso de recurrir á él sería dispendioso por el número relativamente grande de utensilios de forma especial que habría que emplear, parécenos útil indicar una

manera de fabricarlos en el propio laboratorio. A este fin no hay más que echar mano de los platillos ó moldes de vidrio usados por los confiteros, platillos que de varios tamaños se encuentran en los almacenes de cristalería, y degastar sobre una loza, con un poco de esmeril y trementina, los bordes de superficie convexas que en la sección se representan como planos (*a*, *b*). Con estos ú otros utensilios análogos de uso vulgar, es fácil combinar disposiciones mucho más cómodas que las planchas, tanto para hacer las

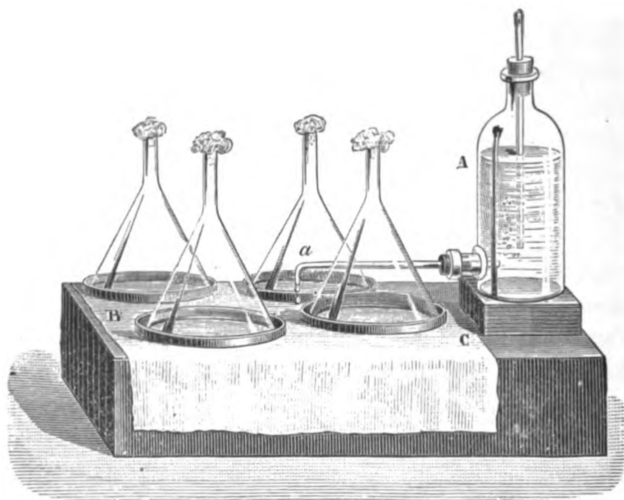


Fig. 70.—Enfriamiento producido por la evaporación, aplicado a la solidificación de los cultivos en planchas.

siembras, preocupándose menos de la cuestión nivel y manera de extender las jaleas, como para hacer más expedita y segura la inspección de los cultivos.

Tanto las cubetas como los discos descritos, una vez que han recibido la jaletina fluida, pueden enfriarse

valiéndose de la disposición indicada en la Fig. 70, ó de otro arbitrio semejante. Sobre una caja á nivel se extiende una tela de algodón no muy gruesa y sin pliegues ó arrugas, y sobre esta superficie se ponen las siembras recién hechas que se quieren solidificar, no tan rápidamente como con hielo, pero siempre en tiempo conveniente. Antes de la colocación es preferible tener ya empapado el paño con el mismo líquido que de un frasco de Mariotte, regulado á voluntad, cae gota á gota, y se difunde por capilaridad por todas las tramas del tejido. Por lo general puede servir el espíritu de vino, cuya evaporación llega á mantener un descenso de temperatura constantemente inferior á 16°, cuando la del ambiente alcanza de 22 á 23°. Se acelera la acción, naturalmente, colocando el aparato en una corriente de aire, acción que es todavía más rápida é intensa con un líquido como el alcohol ó el éter. Por otra parte, en el caso eventual de tener que emplear cualquiera de estos dos líquidos, no hay peligro de que sus vapores penetren ó lleguen hasta los cultivos, por que el ajuste de los embudos contra las planchas de vidrio es perfecto.

Producida la solidificación previa é indispensable de que hemos hablado, puede continuarse utilizando la disposición antedicha si la temperatura de la pieza es superior á la de fusión de la jalea, pero limitando el enfriamento á lo estricto necesario, para no entrabar el desarrollo de las colonias con una incubación á temperatura demasiado baja. En tal caso, basta generalmente llenar el frasco de Mariotte con agua común, y regular la salida para que no haya derrame del líquido.

No es tampoco indispensable una superficie plana

para extender la jaletina en capa delgada, en un receptáculo que sirva á la vez de cámara húmeda durante la incubación. Esmarch, de Berlín, ha simplificado el procedimiento usual, aprovechando el mismo tubo en que se hace la mezcla, para extenderla uniformemente sobre la superficie cilíndrica interna. El modo de proceder en este caso es el siguiente: se tienen siempre listos tubos como de 15 centímetros de largo, con unos cuantos centímetros cúbicos de gelatina nutritiva esterilizada; sobre esta se echa, de acuerdo con las prescripciones usuales, el agua en examen, mezclando todo perfectamente; ciérrase el tubo con su tapón, el cual debe entrar bastante apretado, y sobre él se coloca un casquete de goma elástica; por último, se toma el tubo horizontalmente y en esta posición se le hace rotar en la superficie de una vasija con agua fresca, hasta que el enfriamiento solidifique la capa de jalea. Esta operación se puede hacer á mano, pero sólo con un tubo á la vez; si se quiere llevarla á cabo con varios tubos simultáneamente, y obtener una distribución más uniforme de la mezcla, es necesario recurrir á un aparato

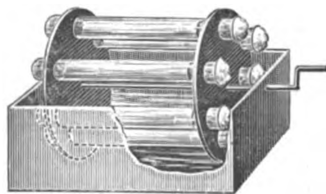


Fig. 71.—Distribución y enfriamiento de la jaletina en los tubos de Esmarch.

como el que representa la fig. 71, sencillo soporte rotatorio de zinc ú hojalata, montado sobre una vasija de lo mismo, á medio llenar de agua. Solidificada la

siembra, se puede colocar cada tubo en cualquier posición sobre soportes usuales, y retirar los casquetes. Por lo demás, las condiciones de cultivo son las mismas ya prescritas. Para el examen bacteriológico cuantitativo de las aguas, hemos visto dar preferencia al sistema de Esmarch, sobre el sistema usual, en el laboratorio del Instituto Higiénico de Münich. Para

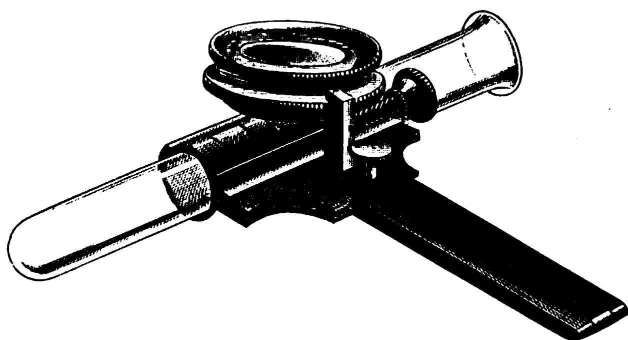


Fig. 72.—Aparato para contar las colonias en los tubos de Esmarch.

hacer la cuenta de las colonias en los tubos de Esmarch, se emplea el simple aparato representado en la fig. 72. El cual consiste, como puede verse, en una charnela ó bisagra, terminada en dos mediacañas que pueden adaptarse exactamente al tubo. La mediacaña superior tiene dos, ó más caladuras correspondientes á $\frac{1}{4}$, á $\frac{1}{2}$ á 1 centímetro cuadrado, etc.; y por encima de ellas puede pasearse una lente de poco aumento, mediante un tornillo lateral en conexión con el soporte de la lente. Compréndese que, gracias á combinación tan simple, sea fácil examinar y contar las colonias que hay en un lugar cualquiera de la parte cilíndrica del tubo. Como la

superficie de esta parte se puede tener determinada de antemano, muy sencillo es deducir inmediatamente el número total de colonias, ateniéndose al número medio de ellas encontrado por unidad de superficie, después de examinada la capa de jaletina en diversos lugares del tubo. Hay que tomar en consideración, además, la pequeña cantidad de jaletina adherida al algodón y la que recubre el fondo del tubo.

c. **Método de la dilución del agua y su fraccionamiento en gelatina.** [Método mixto de Miquel.]

Cuanto se expuso acerca del método de los fraccionamientos en caldo es aplicable á este "método mixto," así designado porque une el sistema de hacer las siembras en los medios nutritivos líquidos con el de la obtención de cultivos en forma de colonias aisladas en

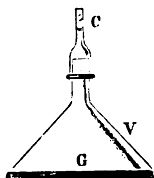


Fig. 73.—PEQUEÑO MATRAZ CÓNICO PARA LAS SIEMBRAS FRACCIONADAS EN GELATINA.

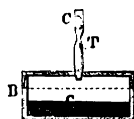


Fig. 74.—CAJA Ó CUBETA DE VIDRIO, PARA EL MISMO OBJETO. Empléase este sistema cuando hay que hacer estudios cualitativos de las colonias.

los medios nutritivos de consistencia gelatinosa. A los tubos ó frascos con caldo sustitúyense pequeños recipientes, como de 4 á 5 ctms. de diámetro (Figs. 73 y 74), en cuyo fondo hay una capa de jaletina ó de

agaragar nutritivo. Minutos antes de practicar la siembra, colócanse en la estufa calentada de 35 á 40°, para fundir la jalea, obtenido lo cual vanse inoculando uno á uno, exactamente como en el primero de los métodos cuya descripción hemos hecho. A partir de este momento, se procede con ellos de acuerdo con lo dicho para los cultivos en plancha, en cuanto se refiere á la solidificación del substrátum nutritivo y á las condiciones de temperatura en que debe mantenérsele durante la incubación.

La cual puede prolongarse mucho más tiempo en este procedimiento que en el usual de la gelatina, por cuanto la dilución del agua, por un lado, y el fraccionamiento de la siembra por el otro, permiten que sólo escasísimo número de gérmenes—acaso uno, dos ó tres, cuando más—vayan á quedar aprisionados en la capa semisólida de cada pequeño matraz ó cubeta de cultivo. Si se recuerda que hay gérmenes cuyo desarrollo en forma de colonias visibles suele tardar semanas y aún meses, como lo ha verificado Miquel, convendráse en que el procedimiento mixto presenta manifiesta superioridad sobre el procedimiento rápido ordinario, que sólo da tiempo para la evolución de las especies hasta cierto punto indiferentes á las poco propicias condiciones de temperatura y de nutrimento de la gelatina, y que en corto lapso, si son licuantes, acaban por invadir toda la superficie de cultivo.

La siguiente tabla resume los resultados de una serie de experimentos del mencionado sabio, llevados á cabo con el fin de establecer el valor comparativo de los tres procedimientos que pueden adoptarse para hacer la cuenta de las bacterias del agua.

	Número de bacterias por centímetro cúbico, determinadas en una misma agua por el procedimiento			
	de las planchas.		mixto.	del caldo.
1er experimento	58	(9)	111	232
2º ,,	100	(11)	190	128
3º ,,	330	(17)	375	385
4º ,,	215	(25)	285	310
5º ,,	285	(18)	271	582
6º ,,	44	(30)	57	57
7º ,,	143	(8)	1285	525*
8º ,,	178	(15)	500	516
9º ,,	72	(9)	320	330
10º ,,	107	No licuada.	107	215
11º ,,	89	(12)	250	230
12º ,,	710	(7)	2850	3160
13º ,,	125	(24)	335	138
14º ,,	89	(8)	320	416
15º ,,	1430	(20)	2590	1800
16º ,,	57	No licuada.	46	57
17º ,,	250	(28)	250	320
18º ,,	128	(21)	285	290
19º ,,	740	(17)	885	1010
20º ,,	3390	(16)	10899	15500
21º ,,	10000	(13)	15710	13210
22º ,,	6070	(17)	4285	6875
23º ,,	1250	(21)	1600	2780
24º ,,	2500	(20)	7850	6670
25º ,,	715	(18)	1430	820

Observación—Los números entre paréntesis denotan los días al fin de los cuales licuóse la gelatina.

* En esta séptima experiencia por fraccionamientos en caldo presentáronse 45 casos de alteración por 100, por lo que la cifra 525 no es sino un minimum inexacto.

II. Examen cualitativo.

Consideraciones generales.—La determinación de las especies bacterianas abarca múltiple orden de observaciones, que empiezan por la del aspecto macroscópico de los cultivos puros obtenidos en diversos medios nutritivos, hasta concluir con la de los efectos de inocular esos cultivos en diversos animales. No todas tienen la misma importancia para cada determinación particular pues, mientras en ciertos casos tal reacción ó aspecto de los observados es de capital importancia, en otros apenas es indicio digno de tomarse en consideración. En tesis general, la diagnosis de la especie no puede hacerse sin entrar á apreciar el conjunto de las manifestaciones aisladas que ofrecen los cultivos estudiados en diferente forma; una sola contradicción basta para anular la importancia del fenómeno que se toma como característico, ó por lo menos á disminuirla considerablemente, mientras no se esclarezca de un modo satisfactorio el punto dudoso. Un ejemplo: el bacilo tífico ofrece, junto con ciertos caracteres fijos comunes á otras especies morfológicamente semejantes, la peculiaridad de formar cultivos casi imperceptibles en la papa, lo cual se utiliza para distinguirlo de las especies aludidas. Ahora bien, supongamos que uno de esos caracteres secundarios, p. ej., la movilidad, no existiese en los bacilos de un supuesto cultivo tífico de acuerdo con la prueba de la papa: en tanto no se averiguase que la falta de movimiento de las celulas era fenómeno accidental, debido á cualquiera circunstancia de las que modifican las manifestaciones vitales de los microorganismos, la referida prueba perdería completamente su alcance, por cuanto aún en las condiciones que

pudiéramos llamar normales carece de valor absoluto. Subsistiese la inmovilidad en todas las formas usuales de cultivo, preciso era convenir, entonces, que no se trataba del bacilo tífico. Lo dicho para la movilidad aplícase, ciertamente, al aspecto de los cultivos en gelatina, á la forma típica bacilar, etc.

Es parte á aumentar la dificultad en este género de investigación, la falta de una clasificación científica de las bacterias, pues la basada únicamente en los caracteres morfológicos y otros atributos tan variables como aquellos, esclarece la naturaleza íntima de las especies todavía menos que una clasificación basada en las formas cristalinas lo hace con respecto á las sales. No existiendo á tal respecto un camino fijo que seguir, aunque fuese difícil, resulta que para llegar á formar criterio definitivo sobre el carácter específico de los gérmenes aislados, debe el investigador tener conocimiento práctico de las propiedades generales de las numerosas especies indiferentes que constantemente acompañan á las muy contadas cuya investigación se persigue con fin higiénico, industrial ú otro cualquiera. Hay suma de energía desperdiciada en llegar al fin apetecido por medios indirectos como si, valiéndonos de análoga comparación á la anterior, fuesen en análisis química desconocidos los principios fundamentales de que se deducen las reacciones, y que en cada caso particular hubiese que determinarlas empíricamente y por tanteos.

Sensible es que, fuera de lo dicho en los tratados generales, no se haya publicado todavía, conforme á un plan convencionalmente sistemático y uniforme, siquiera las principales propiedades morfológicas y biológicas de los numerosos microorganismos ya debidamente

caracterizados. Esta uniformidad de descripción facilitaría mucho el camino al investigador que no busca en la bacteriología un campo de estudio, sino incidentalmente un medio para llegar á determinado conocimiento, así como le es dado utilizar los principios de la química ó de cualquiera otra rama de la ciencia. Las descripciones de los diversos autores no son fácilmente comparables entre sí; existen contradicciones, por lo menos aparentes, á parte de la anarquía que reina en la designación de las especies, esto último de menor importancia, dada la muy pequeña que tiene el actual sistema de clasificación.

Datos y observacines que se utilizan en la determinación de la especies.—El conjunto de las principales observaciones que, en el estado actual de los conocimientos, es dado utilizar para la determinación de las especies bacterianas que pueden existir en el agua, es el siguiente:

OBSERVACIÓN DIRECTA.

1. Aspecto macroscópico de los cultivos puros obtenidos en en la primera siembra.

   Colonias en la jaletina.
   Turbiedad ú otra forma de alteración en los caldos.

2. Reacciones ó aspectos de crecimiento de los mismos cultivos, reinoculados en diversos medios y en diversa forma.

En gelatina nutritiva ordinaria.	En forma de picadura superficial.
En gelatina nutritiva colorada.	En forma de puntura profunda.
En papas.	En forma de raya ó estría.
Etc., etc.	

3. Reacciones químicas.
4. Efectos fisiológicos sobre los animales.

OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.

5. Caracteres morfológicos y biológicos de las células, en diversas faces y condiciones de crecimiento.

Forma y tamaño—Movilidad. Formación ó ausencia de esporas. Particularidades del protoplasma.	Preparaciones sin teñir.
Reacciones de coloración: se tiñen fácil ó difícilmente con tales ó cuales colores de anilina. Particularidades del protoplasma. Se coloran ó no por el método de Gram.	Preparaciones teñidas.

1. *Aspecto macroscópico de los cultivos obtenidos en la primera siembra.*—Las colonias que empiezan á brotar en la gelatina nutritiva, después de incubación de uno á dos días á la temperatura media de 15 á 20°, se dividen en dos grupos principales, cuya distinción es el punto de partida del examen cualitativo:

1º *Colonias solidas*, que no alteran, en su contorno, la constitución de la gelatina.

2º *Colonias licuantes*, es decir, que desde el primer período de su crecimiento licúan la gelatina.

Sólidas ó licuantes ofrecen, además, distintivos de coloración, de forma, de estructura y otros detalles que sólo pueden observarse con un aumento de 80 á 100 diámetros. Este examen de las colonias, con el aumento señalado, es casi indispensable si no se quiere que trascurra mucho tiempo entre la aparición de los pequeños puntos en la gelatina y el momento de poder juzgar á ojo los distintivos de que hemos hecho mención; es indispensable, además caso de que hayan colonias que licúen rápidamente la gelatina, antes de que el observador pueda darse cuenta de si las otras, más tardías en su desarrollo, deben ó no

someterse á estudio concienzudo, transplantándolas, á otros medios nutritivos para, si fuese necesario, perpetuarlas en forma de cultivos puros. En suma, permite este primer examen macroscópico juzgar desde el primer momento si hay colonias que presenten, aunque sea superficialmente, los caracteres de las colonias cuya busca se ha emprendido. Fuera inútil por ejemplo, hacer reinoculaciones con una colonia decididamente cromógena, es decir, que produce un pigmento característico, si lo que se tiene en vista es averiguar si existen ó no en el agua sembrada, bacilos de la fiebre tifoidea.

2. *Reacciones ó aspectos de crecimiento en diversos medios nutritivos.*—Suponiendo que entre las colonias



Fig. 75.—Reinoculación de los cultivos, en tubos de gelatina nutritiva.
El estilete de platino se esteriliza cada vez á la lámpara.

brotadas haya alguna en el caso de ser sometida á examen especial, lo que debe hacerse es reinocular con ella uno ó más tubos de gelatina, para asegurar desde luego la persistencia del cultivo, aunque la siembra origi-

nal llegue á perderse por cualquiera causa. En la Fig. 75 puede verse la manera de hacer estas reinoculaciones, sea que consistan en simples picaduras, sea en rayas ó estrías. Estas últimas requieren tubos en que la superficie libre de la jaletina solidificada tenga bastante extensión, como se ve por los cultivos en rayas de la Pl. VI. Cuando se trata de una pinchadura profunda á través de la masa gelatinosa, conviene proceder

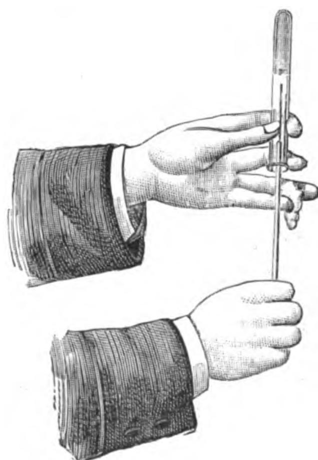


Fig. 76.—Reinoculaciones en forma de pinchadura profunda.

según lo indica la Fig. 76. Hay así más seguridad para hundir el estilete de platino que sirve para la reinoculación, precisamente en la dirección del eje del tubo. Cada una de estas tres maneras de hacer inoculaciones en la gelatina—por picada superficial, por puntura profunda y por raya ó estría—implica diferencia de condiciones en el crecimiento de los cultivos, de tal suerte que las peculiaridades inherentes á una ú otra

forma suelen tomarse como distintivo caracteristico en la determinación de más de una especie: por ejemplo, la depresión particular y la burbuja de aire de los cultivos del espirilo colerígeno. Es cierto que no se pueden considerar como manifestaciones de valor absoluto, ni mucho menos, pero es innegable que en la mayoría de los casos constituyen hasta aquí una de las pruebas más importantes entre las muchas que es necesario estudiar en conjunto y que aisladamente, ya lo hemos dicho, son del todo insuficientes. Esa diferencia de condiciones aludida más arriba, no es tan insignificante como pudiera juzgarse á primera vista. En prueba de ello no hay sino que recordar el papel importantísimo del oxígeno con respecto á las condiciones de existencia de los microorganismos, sean aerobios ó anaerobios. De ahí que una inoculación profunda en la masa de gelatina sea el extremo opuesto, en cuanto á la circunstancia mencionada, al de un zurco ó estría en la superficie: en este caso, al revés del anterior, el cultivo entero queda más en contacto con el aire, y las peculiaridades de crecimiento serán otras.

Hemos incluido entre las reacciones de que se puede sacar partido en el examen cualitativo de las especies, la que ofrecen ciertos cultivos en la gelatina colorada por el procedimiento de Noeggerath: p. ej., los cultivos tíficos. Limitámonos á este ejemplo porque no hay otro que pueda tener mayor importancia en la aplicación de la bacteriología al conocimiento de la calidad de las aguas. En qué consiste esta reacción para los cultivos del bacilo de Eberth, se indicará más adelante, en el cuadro-guía para el aislamiento é identificación de dicho germen.

En cuanto á las reinoculaciones en papa, de las

colonias resultantes de una primera siembra del agua en ensaye, es claro que por tratarse de un terreno sólido y opaco sólo podrán hacerse en la superficie. El utensilio empleado es el mismo, es decir, un estilete de platino, y la forma de hacer la inoculación, la indicada en la Fig. 34. Es mucho más conveniente el uso de papas esterilizadas en tubos de ensaye, no solamente por la mayor facilidad de manejo de los cultivos aislados, sino porque disminuyen las probabilidades de contaminación de la papa por gérmenes del aire. Aunque hechos en idénticas condiciones, pueden los cultivos de un mismo germen presentar en la papa ligeras diferencias como aspecto macroscópico; es más: examinados al microscopio pueden los gérmenes ofrecer diferencias en el tamaño, en la movilidad y aún en el aspecto particular del protoplasma. Proviene esto de que la papa á veces es neutra, á veces de reacción ácida, y ya dijimos que un medio nutritivo acídulo es impropio para el conveniente desarrollo de la gran mayoría de las especies bacterianas. Es útil saber á qué atenerse sobre el particular, cualquiera que sea la condición, y al efecto no está demás hacer comparaciones, inoculando papas simplemente cocidas en agua natural ó al vapor, y otras cocidas en agua ligeramente alcalinizada,—por ejemplo, con carbonato sódico.

Por fin, aunque menos característicos, los cultivos en caldo presentan aspectos macroscópicos que alguna luz llegan á arrojar para la identificación de las especies, ateniéndonos á los caracteres de los precipitados que en el caldo se forman. A decir verdad, sin embargo, de mucho mayor importancia son esos cultivos para el examen directo de los gérmenes bajo el microscopio, los

cuales ofrecen peculiaridades anejas á la vida más exhuberante que llevan en un medio de mayor adecuación, no sólo como nutrimento sino por las condiciones más favorables de temperatura á que puede ser utilizado. Lo que se dijo á propósito de la gelatina colorada, aplícase también á los caldos colorados por el mismo procedimiento.

3. *Reacciones químicas de los cultivos.*—Puesto que durante la nutrición microbiana gran cantidad del medio de cultivo es alterado, con formación de diversos productos resultantes del "desdoble" de los principios albuminóideos ú otros del nutrimento, permitido es suponer que hay cierta relación entre la naturaleza química de esos productos y la actividad específica de los microbios á que se deben. No es mucho lo que hasta el presente se ha averiguado en tal sentido, pero es indudable que la investigación que tuviera por base un conocimiento de esa naturaleza, tendría que ser más conducente que la basada en el mero aspecto macroscópico de los cultivos. La reacción más característica que á este respecto se ha señalado, es la que ofrecen los cultivos de diversas especies de espirilos, en presencia de los ácidos clorhídrico, sulfúrico y oxálico, y que, según se indica en próximo lugar, es marcadísima para el espirilo del cólera asiático. Es probable que con el tiempo se descubran otras reacciones, si no decisivas, al menos capaces de servir como nuevas pruebas ó datos ilustrativos en la identificación de las especies.

4. *Efectos fisiológicos.*—En el capítulo anterior dimos algunas ligeras explicaciones sobre los procedimientos generalmente usados en los laboratorios de bacteriología para tentar la infección de los animales, sea con cultivos puros, sea con otros materiales en que existan

gérmenes cuya acción patógena se desea investigar. Repetiremos que la observación de los efectos fisiológicos provocados por la infección experimental no es indispensable en el estudio bacteriológico de las aguas. La prueba en sí no tiene actualmente mayor valor, al tratarse de la identificación de las especies bacterianas que pueden inficionar el agua, que el conjunto de las otras reacciones que se emplean con idéntico fin: es un dato más,—de ahí su utilidad, sujeto como los restantes á causas de error, ó á confusiones provenientes de que no siempre es fácil decidir si los efectos de inocular un cultivo en dosis considerable, como es frecuentemente necesario, son del carácter de una infección específica ó de una intoxicación. Acaso el porvenir de estas inoculaciones hállase antes bien ligado á la solución del problema de averiguar, por vía más directa, si en el agua existen los gérmenes cuyo carácter específico no es dado patentizar de un modo bastante rápido y seguro por la cultivación ordinaria. Si se consiguiese exhaltar grandemente, en sentido determinado, la receptividad de las especies animales usadas en esta investigación, probablemente conseguiríase, también, provocar en alguna de ellas la multiplicación (é infección consiguiente del animal) de tal ó cual germen determinado, caso de que existiese en el agua usada como material de infección. La infección experimental aplicada al estudio de las aguas tendría así dos objetos:

1º. Servir á la determinación del carácter específico de un cultivo puro en examen.

2º. Servir para el aislamiento de los gérmenes patógenos por una especie de adaptación previa del terreno de cultivo. Este último procedimiento, apli-

cado el agua, no ha tenido hasta aquí éxito alguno, pero es evidente que cuenta en su apoyo con el fenómeno de la infección misma del individuo en situación de recibirla, al absorber agua contaminada por gérmenes de enfermedades. Por otra parte, como medio para aislar los gérmenes, cuenta en su apoyo con los resultados positivos de Gamaleia, á propósito de los espirilos del cólera nostras. Refiriéndose dicho sabio á la imposibilidad de Koch y Franck para encontrar en muchos casos el microbio mencionado, dice que el método de los cultivos artificiales es incontestablemente inferior al de la infección, cuando se trata de aislar un organismo patógeno, perdido entre bacterias vulgares.*

Unicamente las tentativas de infección con cultivos puros alcanzan cierta importancia práctica en el estudio bacteriológico de las aguas ; por ejemplo, para agregar una prueba más,—sujeta á objeciones, como lo dijimos —á las que se estiman como suficientes en la identificación del bacilo de Eberth. En el caso de los espirilos colerígenos, la prueba de la infección es inútil, porque sin ella puede llegarse perfectamente á la determinación de la especie, y también porque no es característica, desde luego que hay otro germen por lo menos (*vibrio Metschnikovi*), que produce en los animales inoculados idénticos efectos.

5. *Caracteres morfológicos y biológicos de los gérmenes.* —Después de un examen directo y externo, más ó menos detenido, de las colonias ú otras formas de cultivo, el examen micróscopio viene á confirmar ó á desvanecer el pronóstico formado en el primer momento acerca de la naturaleza específica de los microorganismos en estudio. Prácticamente ambas observaciones

* *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. II., 1888, p. 488.

se prosiguen de un modo simultáneo, porque sólo de la confrontación de los datos suministrados por cada una de ellas se pueden sacar deducciones de valor inequívoco, y fuera inútil atenerse exclusivamente á las reacciones de cultivo ó á las formas de las organismos reveladas por el microscopio para establecer el carácter diferencial de una especie. Numerosas son las influencias exteriores que llegan á alterar los caracteres morfológicos de las células, de tal suerte que si no se refieren esos caracteres á condiciones determinadas de cultivo—es decir, de tiempo, de temperatura y de medio nutritivo—los resultados de la observación pueden sorprender á veces por lo desiguales ó contradictorios. Ya se trate de modificaciones pasageras, provenientes nada más que de las circunstancias mencionadas, ya de una función pleomórfica de la especie, el hecho es que hay en esa variedad de manifestaciones causas de extravío para el observador, si toma el examen microscópico como un procedimiento aislado, é indicios de inestimable valía para la verificación que persigue, si con rectitud de criterio compulsa sistemáticamente los datos de uno y otro medio de investigación. Hémonos referido al atributo de forma: idénticas consideraciones deben regir para la movilidad, las alteraciones del protoplasma, el medio de multiplicación, y las otras manifestaciones vitales de las células, que pueden observarse con el microscopio, tanto en las preparaciones sin teñir como en las teñidas por los colores de anilina.

La nomenclatura actual de las bacterias que, desprovista de sus numerosas designaciones derivadas redúcese en buena cuenta á llamar *mĭcrococos* á las células redondas, *bacilos* á las ligera ó considerable-

mente alargadas, y *espirilos* á las encorvadas ó a sus asociaciones,—fúndase sobre los caracteres tan variables de *la forma* por lo cual no puede tomarse sino como guía de muy poca utilidad en el examen micrográfico de los cultivos. Dos son las razones generales que militan para proceder con gran cautela al tratarse de formar criterio sobre la naturaleza específica de las bacterias, ateniéndose á la dicha indicacion:

Primera: las especies más diferentes *como función*, pueden presentarse bajo el microscopio como morfológicamente idénticas. Esto puede observarse, principalmente, con el numeroso grupo de los micrococos, microorganismos imposible de distinguir por el aspecto aunque, p. ej., muchos de ellos poseen activas propiedades patogénicas, en tanto que otros son simple saprófitos, sin significado etiológico alguno.

Segunda: una misma especie puede presentar las más variadas formas, resultantes de la adaptación de los organismos á medios diferentes, y de las circunstancias de temperatura, vejez del cultivo, etc. Sin embargo, las variaciones en el aspecto de éste pueden ser imperceptibles.

Razones son estas que, junto con las observaciones precedentes, resumen cuanto pudiera decirse acerca de la manera de comprender y de conducir el examen micrográfico aplicado á la identificación de los organismos. Como detalles prácticos, pueden verse los referentes al bácilo tífico y al espirilo colerígeno, consignados en los cuadros con que termina este último capítulo.

Aislamiento é identificación del bacilo tífico.—Reúnense en el primer cuadro de los aludidos los datos concernientes á esta operación. Expondremos simple-

mente aquí algunas observaciones sobre la reacción de cultivo que se da como característica de dicho germen: nos referimos á la prueba de la papa, al aspecto particular que en este medio presentan los cultivos tíficos,—ó más bien al ningún aspecto, si se nos permite la expresión, puesto que se desarrollan en forma de capa, á la simple vista imperceptible. Emmerich, Kowalsky, Fodor y otros no aceptan esta prueba como decisiva, puesto que hay otros gérmenes en el agua, en la papa misma, etc., que crecen de una manera análoga. Consultados especialmente sobre este punto los bacteriólogos nombrados ratificaron á los autores la opinión expuesta, estando contestes en que se necesita, además, hacer inoculaciones sobre los animales para llegar á formar concepto cabal acerca de la verdadera naturaleza de un supuesto cultivo tífico en estudio. El Dr. Miquel va más lejos, visto que coloca la prueba de las inoculaciones al par de cualquiera de las otras. En su interesante memoria, ya citada, sobre el estudio micrográfico de las aguas de París dice: * "Conozco por mi parte tres especies de bacilos aislados de las aguas, del aire y del barro de París, cuya semejanza con el bacilo del tifus es perfecta, y cuyo cultivo sobre la gelatina, la papa, *las inoculaciones* producen resultados absolutamente semejantes . . . ". Mientras tanto, el Dr. C. Fraenkel del Instituto Higiénico de Berlín, consultado también particularmente sobre el punto en cuestión, juzga que la reacción de cultivo que nos ocupa es perfectamente suficiente, con tal que el conjunto de los caracteres biológicos y morfológicos de los gérmenes concuerden con ella. Chantemesse y Widal, en Francia,

* *Ann. de l'Obs. de Mont.*, 1888, pág. 572.

cuyo interesante trabajo sobre el bacilo de Eberth * conviene consultar para el propósito del aislamiento é identificación de este bacilo, opinan de la misma manera, y señalan, á más, como manifestación característica el movimiento particular de las celulas cuando atraviesan el campo del microscopio.

Parécenos, á nuestro humilde juicio, que esta divergencia de miras tiene más importancia en el concepto bacteriológico que en el concepto higiénico. En el primer caso, basta una sola excepción para disminuir grandemente ó, si se quiere aún, para anular el valor de la prueba que se da como irrecusable, pero ¿podríase adoptar la misma inflexibilidad de criterio, p. ej., si se tratase de dar dictamen sobre la calidad de un agua que encerrase gérmenes morfológicamente iguales á los gérmenes tíficos y con todas las reacciones de cultivo de los mismos? En este caso no habría higienista que, sin faltar á la lógica, dejase de pronunciar un fallo condenatorio; y no obraría con cordura ni prudencia la autoridad que no arbitrase medidas para evitar el uso de un agua calificable por lo menos de ultra-sospechosa. La falta de lógica al proceder de otra manera salta á la vista, teniendo en cuenta que se aceptan como suficientes para el rechazo de cualquier agua los simples resultados del examen químico, cuyo valor es dado apreciar únicamente por inferencias. Por inferencias se procede, también, limitando el examen bacteriológico á lo que queda expuesto, pero es indudable que en este caso hay una relación mucho más directa. Bastará recordar, simplemente, que sólo en las aguas orgánicamente impurificadas se encuentran

* *Recherches sur le bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoïde.* [Arch. de phys. 1º de abril, 1887.]

las especies bacterianas que por su aspecto de crecimiento en la gelatina, etc., etc., semejan á la del bacilo tífico, y que esas especies provienen generalmente de los productos excrementicios del hombre. Su presencia en el agua, por lo mismo, constituye el indicio más manifesto de contaminación peligrosa.

Aislamiento é identificación del espirilo colerígeno.— Este germen, al revés del bacilo de Eberth, es de fácil identificación, pero de difícil aislamiento si se encuentra perdido entre multitud de organismos extraños, de los cuales algunos puedan licuar la gelatina nutritiva en que es necesario hacer las siembras. En el cuadro último consignamos los principales datos que pueden servir para llevar á buen término la doble operación indicada. Sólo nos resta hacer algunas aclaraciones sobre la reacción de cultivo que se acepta coma decisiva para distinguir los espirilos del cólera asiático de otras especies morfológicamente iguales. Los tratados de bacteriología describen minuciosamente los aspectos de crecimiento de las colonias de este microorganismo en condiciones determinadas de tiempo, de temperatura y de nutrimento. Dejando á un lado el primero de estos factores, siempre fácil de regular á voluntad, quedan todavía los factores variables de grado de calor y de calidad nutritiva de la jaletina para influenciar, á veces en no estrechos límites, el aspecto macroscópico de los cultivos. De ahí, como en ciertos casos que señalaremos en seguida, causas de incertidumbre, y dificultades para llegar á un resultado preciso.

Este dato característico es el aspecto de los cultivos iniciados por picadura profunda en tubos de gelatina nutritiva : en todo el largo de la huella invisible dejada por el alambre de platino con que se ha hecho la

inoculación, empieza á formarse, por licuación de la jaletina una cavidad alargada, que termina en la parte superior por un ensansche de forma particular, en que se nota una burbuja de aire (Fig. 77). Este resultado se observa en las condiciones que llamaremos normales, cuando la jaletina es de naturaleza nutritiva adecuada, y la temperatura se ha mantenido al rededor de 18 á 20°. Pero, si el grado de calor es demasiado alto, como puede suceder en el verano, hasta el punto que la jaletina se ponga de consistencia muy débil; ó bien si las condiciones del medio nutritivo son anormales en cualquier otro sentido, entonces ocurren irregularidades en el crecimiento del cultivo que pueden dar lugar á perplejidad. En el primer caso, el reblandecimiento excesivo de la jalea, ó estado de semifluidez vecina á la fusión, no da origen á la cavidad neta, bien definida, de que hemos hablado, sino, en todo el largo de la inoculación á una turbiedad que poco á poco va tomando cuerpo y avanzando hacia las paredes del tubo. A esa temperatura, ya un poco más vecina al *óptimum* favorable á los espirilos para su desarrollo, y en esa condición de menor consistencia del terreno nutritivo, el crecimiento tiene que ser activísimo, sobre

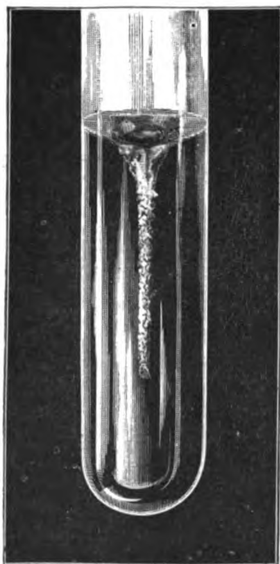


Fig. 77.—Cultivo de bacilos vírgulas en gelatina nutritiva. (Después de dos dias de incubación.)

todo por la facilidad que se crea á la difusión del cultivo. De este modo se borra, ó por lo menos se hace menos típico el más notable de los caracteres externos de los cultivos en tubos.

Por otro lado, las siembras en jaletinas muy duras, poco nutricias y de reacción aunque no sea sino débilmente ácida, presentan un defecto contrario. Desde luego, á la temperatura que hemos considerado normal para el cultivo de lo bacilos vírgulas en gelatina nutritiva, no hay, en terreno tan poco á propósito, señal alguna de crecimiento en todo el largo de la inoculación, y apenas si se nota, al cabo de dos ó tres días, un pequeño brote en la superficie. Más tarde, sólo llega á formarse una depresión en forma de embudo, sin licuación de la jaletina, en cuyo vértice la colonia ha cesado de desarrollarse por lo inadecuado de las condiciones. Ahora, si desde un principio se eleva el grado de calor hasta lograr el reblandecimiento necesario, quedan en parte compensadas las circunstancias desfavorables, pero no se llega tampoco al resultado usual. De uno á tres días el cultivo no ha alcanzado sino tamaño diminuto, se desarrolla con suma lentitud, llegando á trascurrir una semana ó más, antes de que adquiera las proporciones de un cultivo normal de 24 horas.

Al llamar la atención hacia la influencia que ciertas circunstancias anormales pueden ejercer sobre el aspecto, de otro modo tan característico, de los cultivos en tubo del espirilo colerígeno, hemos tenido en cuenta la posibilidad de ocurrencia semejante en la práctica. En efecto, tal es lo que hemos observado en más de una ocasión, aunque no siempre en los límites extremos indicados por tratarse en este último caso de experimentos hechos ex profeso.

Hasta la fecha no se conoce ninguna.

Efectos fisiólogicos.

La inoculación en el peritoneo, de 1 cc. de cultivo tífico en caldo, obtenido á la temperatura ordinaria, determina en las ratas una septicemia que mata á estos animales

Si el b. tífico produce una tomaina especial (la *tifotoxina* de Brieger), que la muerte de los animales inoculados provenga de infección verdadera ó de simple intoxicación,

4. *Reacciones de coloración.*—Los espirilos del cólera asiático se tiñen bien con la disolución acuosa de morado de metilo y con la de fucsina; apenas con el moreno de Bismarck. No se tiñen por el método de Gram.

APÉNDICE.

Los animales parásitos introducidos por el agua en el organismo,*

POR EL

DOCTOR RAFAEL BLANCHARD.

Profesor agregado de la Facultad de medicina de París, Secretario general de la Sociedad zoológica de Francia.

INTRODUCCIÓN

GRACIAS al alto grado de perfección que el microscopio y la técnica micrográfica han alcanzado en la segunda mitad de este siglo, nuestro conocimiento de los seres que viven, como parásitos, á expensas del Hombre ó de los animales, ha hecho progresos considerables. De esta suerte han revelado su existencia gran número de animales, desconocidos hasta el día. Otros, cono-

* NOTA.—El presente trabajo forma parte del cuerpo de la obra y, como tal, debió haberse impreso como uno cualquiera de sus capítulos. Sin embargo, no ha podido ser así; su autor, Don Rafael Blanchard, sólo ha venido á tener la oportunidad de redactarlo cuando la parte tipográfica de la impresión estaba enteramente terminada.

Aprovechamos esta *nota*, para reiterar la expresión de nuestro más profundo reconocimiento hacia el sabio autor que con tanta buena voluntad como inteligencia, ha prestado su valiosa cooperación, encargándose de la redacción francesa de este apéndice, de su versión al castellano y de los cuidados materiales de su impresión, como corrección de pruebas, etc.

cidos desde larga fecha, han sido estudiados con mayor cuidado, por medio de métodos perfeccionados; se ha logrado dilucidar por completo su estructura, y por último se han determinado con más exactitud las relaciones de dichos animales con el organismo, ó sea las lesiones que en él producen.

El descubrimiento capital de la emigración de las Tenias ha sembrado en los dominios de la parasitología una idea fecunda, que ha servido de punto le partida á gran número de descubrimientos. Hase investigado si los demás parásitos no presentaban, por su parte, fenómenos de igual naturaleza, y si no pasaban igualmente por dos individuos sucesivos, el primero de los cuales, es decir el *huésped intermediario* (*Zwischenwirth* según los autores alemanes) los alberga, cuando se hallan en estado de larva, mientras que el segundo ó *huésped definitivo* los alberga en estado sexual.

La experimentación que con tan gran acierto acababa de ser aplicada á la parasitología ha permitido resolver estos importantes problemas. Combinándola con el antiguo método que se limitaba simplemente á describir y observar los parásitos, los helmintólogos han logrado en gran parte penetrar el misterio del origen de aquéllos. Se sabe, pues, á la hora presente, de dónde vienen gran número de parásitos, y las emigraciones y metamórfosis á que se hallan sujetos.

Si dejamos á un lado los ectoparásitos tales como los Acarios (*Demodex*, *Trombidium*, *Sarcoptes*, etc.), y los Insectos (Piojos, Chinches, Nigua, *Lucilia macellaria*, etc.) que se propagan de una manera muy sencilla y, por otra parte, harto conocida, despréndese de estos estudios que los endoparásitos se introducen fortuitamente en el organismo, conducidos por los alimentos.

Penetran en él á favor de los alimentos sólidos, ya por medio de las carnes (*Tænia solium*, *T. saginata*, *Bothriocephalus latus*, *Trichina spiralis*, etc.) ya por medio de las hierbas (*Distoma hepaticum*, *Linguatula rhinaria*) ya también con otra suerte de manjares, como el pan, en cuya superficie se hallan repartidos (*Lamblia intestinalis*). Los demás, en mayor número se introducen con el agua potable, en la que pueden permanecer y vivir cierto tiempo, entre tanto que les llega el momento de ser absorbidos por un ser en cuyo organismo encuentran condiciones favorables á su desarrollo ulterior.

Cualquiera que sea el punto de vista que se adopte, el estudio del agua ha adquirido, pues, recientemente en higiene una importancia imprevista. El estudio químico, al cual se limitaba todo en otro tiempo, para resolver si un agua era ó no potable, no suministra actualmente sino datos de valor secundario. Importa ante todo conocer, no la composición química de un agua, sino la naturaleza exacta de los seres que pululan en su seno.

El gusto y el olor empiezan por suministrar ya útiles informes acerca de la naturaleza de las aguas ; el análisis químico extiende y precisa estas nociones ; pero sólo el más serio y escrupuloso examen micrográfico y bacteriológico puede revelar la presencia de los microorganismos ó de sus gérmenes, de los animales ó de sus huevos.

El presente capítulo está consagrado al estudio de estos últimos. Nos proponemos en él pasar sucesivamente revista á todos los parásitos del Hombre y de los animales domésticos, que el agua potable introduce en el organismo, y cuyo conocimiento exacto importa

al higienista, al médico y al veterinario. La mayor parte de dichos parásitos se encuentran en el agua en estado de huevos, de embriones ó de larvas; algunos pasan su primer período parasitario en animalillos acuáticos que, por razón de su pequeñez, pasan fácilmente sin ser notados, y son absorbidos al mismo tiempo que el agua, en la que nadan; otros muchos, tales como ciertos Protozoarios, habitan normalmente en las aguas, pero se acostumbran sin gran trabajo á las más variadas condiciones de existencia, y pueden, gracias á esto, aclimatarse y multiplicarse en el tubo digestivo. Para que nuestro estudio resulte más completo, habremos de hablar igualmente de algunos animales, que, á decir verdad, son más bien pseudo-parásitos * y son llevados accidentalmente por las abluciones á la superficie de la piel ó de las mucosas.

La enumeración que precede indica suficientemente las cuestiones que hemos de examinar aquí. Para conformarnos con el orden zoológico, en cuanto lo permite semejante programa, hablaremos en primer lugar de los Protozoarios.

* Véase á este propósito nuestro artículo *Pseudo-parasites*. Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales, (2), XXVII, p. 702-709, 1889.

CAPÍTULO I.

PROTOZOARIOS.

Á DIFERENCIA de los Esporozoarios, que son normalmente parásitos, los Protozoarios son esencialmente acuáticos; sólo se conoce un escaso número de especies terrícolas. Éstas carecen de interés para el higienista, lo mismo que las innumerables formas que viven en el mar, puesto que el agua del mar no entra en el consumo, ni desempeña en los usos domésticos sino un papel muy restringido.

Las aguas dulces, por el contrario, merecen fijar nuestra atención de una manera enteramente especial. En efecto las aguas estancadas de las cisternas, estanques y lagos, y las aguas mal aireadas de los arroyos de lento curso, se hallan habitadas por legiones de animalillos, que se propagan y multiplican en ellas tanto mejor cuanto más cargadas están de materias orgánicas en descomposición. Estas legiones de animalillos están principalmente formadas por Rizópodos, tales como las Amibas, por Flagelados, y por Infusorios de todas clases. El agua que consumimos cada día, á menos de estar cuidadosamente filtrada, no deja de contener algunos de esos seres, que se introducen de esta suerte en el tubo digestivo. La mayor parte mueren, ya por la temperatura elevada de nuestro cuerpo, ya por el ácido del jugo gástrico, ya también porque no encuentran en este nuevo medio los alimentos que necesitan. Algunos, sin embargo, resisten á estas diversas causas de destrucción, se

acomodan á las nuevas condiciones de existencia á que se ven sometidos, y fijan su morada en el organismo del Hombre ó de los animales, en él que se alimentan y multiplican activamente.

Los Protozoarios, que vivían y se reproducían en el agua de una manera normal, antes que la casualidad los introdujera en nuestro intestino, no son parásitos en el riguroso sentido de la palabra; son mas bien pseudoparásitos.

Otras especies, por el contrario, se han vuelto tan perfectamente parásitas, que son incapaces de vivir en el agua; y sin embargo, según toda apariencia, fué el agua su primer lugar de habitación, antes de adaptarse definitivamente á la vida parasitaria. Si caen al suelo ó al agua con las deyecciones, mueren al cabo de algunas horas, ó se enquistan. El animalillo enquistado se mantiene bastante tiempo en estado de vida latente; no sale de su envoltura ni vuelve á la vida sino cuando es introducido en el tubo digestivo de un huésped á propósito para su desarrollo. De esta manera obran el *Amœba coli*, el *Cercomonas hominis* y el *Balantidium coli;* lo mismo tal vez ocurre con algunas otras especies, principalmente con el *Monocercomonas hominis* y el *Trichomonas intestinalis*, pero acerca de esto último no hay hasta ahora observaciones directas.

Hemos indicado ya que el *Lamblia intestinalis* * era

* Designamos con esta denominación el Flagelado que Grassi ha descrito con el nombre de *Megastoma entericum*, y al que nosotros mismos hemos dado anteriormente el nombre de *Megastoma intestinale*. Véase á este propósito nuestro *Traité de zoologie médicale*, I, pág. 89, 1886, y nuestras *Remarques sur le Mégastome intestinal*. Bulletin de la Société zoologique de France, XIII, p. 18, 1888.

introducido en el organismo con el polvo depositado en la superficie de las substancias alimenticias: tal parece ser, al menos, su modo habitual de propagación; sin embargo los quistos en que se encierra, cuando se halla fuera del organismo, pueden igualmente ir á parar al agua y ser absorbidos juntamente con ella.

La procedencia del *Trichomonas vaginalis* y del *Cystomonas urinaria* es más incierta. Acaso la primera de estas especies haya sido llevada á la vagina ó al nivel de la vulva por el agua de la abluciones. En cuanto á la segunda, cuya presencia en la vejiga debe considerarse como accidental, ha sido sin duda introducida en ella por una sonda, en cuya superficie se encontraba el germen caído de la atmósfera.

Esta misma explicación basta para que podamos darnos cuenta de la presencia de numerosos Flagelados en medio de las materias expulsadas por el pulmón, especialmente en los casos de gangrena pulmonar.

AMŒBA COLI Lösch, 1875.

Lewis y Cunningham, de Calcuta, fueron los primeros en reconocer, en 1870, la presencia de Amibas en las enfermedades del intestino grueso.

El año siguiente, Cunningham continuó estos estudios y observó que las deyecciones de los coléricos contenían el parásito en el 18 por 100 de los casos. El mismo organismo se encuentra en 28 por 100 de los casos de diarrea sencilla. Es incoloro, granulento, se halla provisto de un nucleo y de vacuolos no contráctiles, y se reproduce por división; pero puede también enquistarse, fenómeno que, asegurándole mayor resistencia á las causas ordinarias de destrucción, no deja de facilitar su diseminación.

También Lösch, de San Petersburgo, ha señalado la presencia de Amibas en las deyecciones de un aldeano que padecía una inflamación ulcerosa del intestino grueso y tenía diarrea. En dichas deyecciones se hallaban las Amibas en cantidad inmensa (Fig. 1).

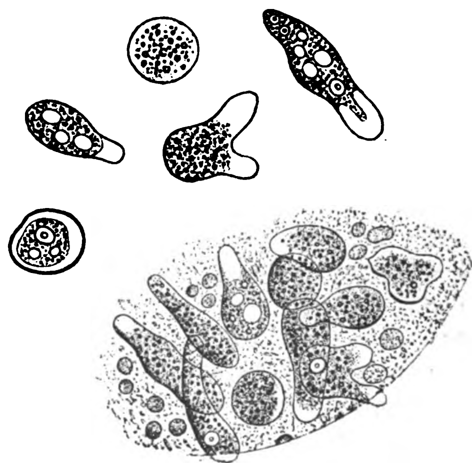


Fig. 1.—AMŒBA COLI.

En estado de reposo, el parásito tiene un diámetro de 20 á 35 μ; en estado de locomoción su longitud puede alcanzar hasta un máximum de 60 μ. Está formado por una masa de protoplasma, en la que se distinguen fácilmente una zona periférica clara ó ectoplasma, y una zona central granulenta ó endoplasma; ésta última contiene un núcleo, de 5 á 7 μ de ancho, y provisto de un nucleolo y de uno ó varios vacuolos. Las prolongaciones cortas y romas con ayuda de las cuales se desaloja ó cambia de lugar lentamente el animalillo, están formadas en su nacimiento por el ectoplasma.

El enfermo de Lösch murió de pulmonía después de permanecer cuatro meses en el hospital. Por mas que fue sustraído á las condiciones en que se había dejado invadir por los parásitos, éstos persistieron durante largo tiempo, sin manifestar la menor tendencia á desaparecer; se reproducían pues en el intestino grueso, sin que disminuyese su número, y finalmente no desaparecieron sino á consecuencia de reiteradas lavativas de quinina. Aun así se encontraban algunos individuos enquistados en medio de los otros, en las evacuaciones.

Diversos observadores han podido hacer también observaciones de la misma naturaleza.

Grassi, de Catania, ha encontrado seis veces en las deposiciones ó evacuaciones de individuos, ya sanos, ya atacados de diarrea, Amibas muy semejantes á las de Lösch, pero más pequeñas; medían de 12 á 22 μ de ancho, y el diámetro de su núcleo era de 2 μ 3 á 5 μ 5. Estos parásitos son muy comunes en Italia, en Pavía, Milán y Mesina.

Normand ha encontrado un número inmenso de Amibas, que medían por lo menos 25 μ, en las deyecciones de un oficial y un marinero de la *Armide*, hallándose este barco de estación en Hong-Kong. Los dos enfermos citados padecían de colitis.

El parásito se encuentra también con frecuencia en Egipto. En efecto Koch * ha podido reconocer Amibas,

* Koch, *Bericht über die Thätigkheit der zur Erforschung der Cholera im Jahre* 1883 *nach Egypten und Indien entsandten Kommission.* Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamt, III, 1887.

N.B.—No citamos aquí sino indicaciones bibliográficas no mencionadas en nuestro *Traité de Zoologie médicale.* París, 2 vol. in 8º de 808 y 883 pág., 1886-1889.

en cortes microscópicos que pasaban al nivel de las ulceraciones del intestino de los disentéricos ; el mismo observador ha descubiertos también Amibas en los capilares del hígado, en un caso de abceso hepático complicado con disentería.

Un médico de Alejandría, Kartulis* asegura haber observado Amibas en las deyecciones de todos los enfermos de disentería. Como esta enfermedad se complica con frecuencia con un abceso del hígado, dicho médico se ha preguntado además si los parásitos no podrían subir por los conductos de la bilis hasta el mismo abceso. En 20 casos, el resultado ha sido constantemente positivo, revelándole la presencia de Amibas en las paredes del abceso. Sin embargo el examen del pus recogido en la autopsia no le permitió observar los parásitos, excepto en un individuo cuya autopsia se hizo una hora solamente después de su muerte. El hígado presentaba dos enormes abcesos, uno de los cuales se había abierto en la pleura ; cada gota de pus contenía Amibas vivas, que no se distinguían en nada de las de la disentería.

En Sicilia, Calandruccio † ha hecho un estudio especial de la Amiba del colón. Según él, es muy común en los individuos atacados de diarrea ó disentería *ab ingestis*, así como en las deyecciones blandas de gran número de individuos sanos. El enquistamiento es un fenómeno normal : la Amiba se divide n 3, 6 ó 9 fragmentos en el interior de su cápsula,

* Kartulis, *Zur Aetiologie der Leberabscesse. Lebende Dysenterie—Amöben im Eiter dysenterischer Leberabscesse.* Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, II, p. 745, 1887.

† S. Calandruccio, *Animali parassiti dell' uomo in Sicilia.* Atti dell' Accademia Gioenia di scienze naturali in Catania, (4), II, 1889.

rodeados cada uno de ellos de una zona delgada de protoplasma hialino. Bajo este aspecto es evacuado el parásito ó, por lo menos, pasa á semejante estado después de su evacuación. Entonces es ingerido el quisto, después de haber permanecido en el polvo un periodo más ó menos largo; es probable que cada fragmento reproduzca una Amiba, la cual crece y se multiplica por cisiparidad. En todo caso, absorbiendo un gran número de Amibas enquistadas, Calandruccio ha visto el parásito aparecer al cabo de 12 días en sus deyecciones; el experimento repetido muchas veces ha dado siempre el mismo resultado.

Consignaremos también que Massiutin,* de Kiew, ha observado cinco veces la Amiba del colón en enfermos atacados de padecimientos diversos, á saber: en un caso de fiebre tifoidea, en uno de disentería aguda, en dos de disentería crónica con deposiciones líquidas, y en uno de disentería crónica con deyecciones sanguinolentas. En todos estos casos, excepto el último, los parásitos eran poco numerosos y cedían facilmente á las lavativas de sulfato de quinina, de tanino ó de ácido bórico.

La *Amœba coli* es pues un parásito muy extendido. Importa por consiguiente averiguar si hay que ver en él la causa de las enfermedades, en el curso de las cuales suele ser observado.

Lösch es de parecer que la Amiba es la causa de la disentería: en la autopsia de su enfermo observó una inflamación violenta, y, de trecho en trecho, ulceraciones en el intestino grueso: supone que los

* Massiutin, *Sobre las Amibas parásitas del intestino grueso.* Vratch, nº 25, 1889 (en ruso).

movimientos de las Amibas en la superficie de la mucosa habían podido inflamarla y luego ulcerarlas; ahora bien una vez causadas las úlceras, eran mantenidas por la causa misma que las había producido.

Á fin de dar una demostración de este hecho, inyectó en tres Perros, por la boca y por el ano, una ó dos onzas de materia diarreica recién evacuada, repitiendo la inyección tres días seguidos. Un cuarto Perro fué sometido al mismo tratamiento, pero después de haberle producido de antemano una enteritis aguda por medio de una lavativa de aceite de Crotón. De esta suerte se trataba de determinar si las Amibas eran capaces de mantener una inflamación ya establecida.

El experimento sólo tuvo éxito en uno de los tres primeros Perros. Las Amibas se mostraron en las deyecciones ocho días después de la última inyección; su número fué aumentando pero sin que el estado general del Perro dejase de ser normal. El animal fué sacrificado 18 días después de la última inyección; la mucosa del recto estaba inflamada á trechos, irregularmente tumefacta, cubierta de mucosidades sanguinolentas, y presentaba tres pequeñas úlceras. Por encima de éstas y en las mucosidades bullían Amibas sin número. Lösch dedujo de esta observación que la Amiba es la causa de la colitis.

Kartulis, por su parte, es de parecer que la disentería epidémica de Egipto y de las regiones tropicales es determinada por la presencia del parásito en los intestinos. En 150 casos encuentra constantemente el parásito, pero no lo observa en ninguna otra enfermedad; lo ve no sólo en el fondo de las úlceras y de las mucosidades, sino también en el corión mucoso y en la capa musculosa, en los casos en que estas

túnicas se hallan ulceradas ; por último la intensidad de la enfermedad se muestra siempre proporcional á la abundancia de las Amibas en las evacuaciones.

En tanto que ciertos observadores no vacilan en atribuir al parásito las enfermedades que dan lugar à su manifestación, otros sostienen la tesis inversa, y no conceden á la Amiba ninguna influencia patogénica. Tal es, en particular, la opinión de Grassi* y de Calandruccio.

Las Amibas se encuentran en mayor ó menor número y á veces con excesiva abundancia lo mismo en individuos sanos que en las más diversas enfermedades. El que se observen con preferencia en los casos de enfermedad depende únicamente de que en estos últimos se practica el examen microscópico de las deyecciones con más solicitud que en estado de salud ; en muchos enfermos se echa de ver, por lo demás, una desaparición gradual de las Amibas, sin que el estado general experimente la más leve mejoría. Por último, frecuentemente se encuentran en el colón de la Rata, animalillos análogos, sin que pueda observarse la menor alteración de la mucosa.

La Amiba se alimenta de la célula epitelial exfoliada y de los desechos que han escapado á la acción de los jugos digestivos (granos de almidón, fragmentos de fibras musculares) ; engloba hematías en su masa, si se producen en el intestino ligeras hemorragias, y persigue además á los Flagelados (*Cercomonas hcminis*, *Monocercomonas hominis*, *Trichomonas intestinalis* y *Lamblia*

* B. Grassi, *Significato patologico dei Protozoi parassiti dell' uomo.* Rendiconti della r. Accademia dei Lincei, IV, pág. 83, 22 gennaio 1888.

intestinalis), parásitos que con frecuencia se observan en su compañía.

En razón de estos hechos, parécenos imposible considerar la Amiba como capaz de producir estados mórbidos, tales como la disentería, la diarrea, la colitis y las úlceras intestinales. Al contrario, creemos que dichas enfermedades, modificando profundamente las condiciones del medio intestinal, preparan un terreno favorable al desarrollo de la Amiba. Ésta prospera, pues, en semejante terreno, ya porque existiese de antemano en el intestino, ya por que penetre en él cuando la enfermedad está declarada. En otros términos, creemos en la completa inocuidad de estos animalillos, que con respecto á nosotros, se conducen más como comensales que como parásitos.

La *Amœba coli*, cuya historia acabamo de trazar con extensión, no es el único ser de este grupo, capaz de habitar ó vivir en el Hombre.

Hemos designado con el nombre de *Amœba intestinalis* ciertas Amibas de gran tamaño halladas en el Cairo por Sonsino en el moco intestinal de un niño atacado de diarrea; estas Amibas tenían de 55 á 70 μ de diámetro.

Steinberg describe con el nombre de *Amœba buccalis* ciertos organismos que dice haber observado en el sarro de los dientes, en 1862.

Baelz ha encontrado la *Amœba vaginalis*, en número inmenso, en la vagina y la vejiga de una joven japonesa, muerta de tuberculosis del pulmón y de los órganos génito-urinarios. Una sola vez, la víspera de su muerte, experimentó la enferma en la vejiga atroces dolores, que se hacían mucho mayores en el momento de orinar.

La orina era sanguinolenta, purulenta y contenía Amibas muy ágiles, y de unos 50 μ de ancho; el moco vaginal contenía esos mismos animalillos.

Sin duda habían sido conducidos á la vulva por las abluciones; se habían multiplicado á la entrada de la vagina, y después habían subido por la uretra hasta la vejiga.

Para terminar con todos los casos de parasitismo ó de pseudoparasitismo de los Rizópodos en el Hombre, debemos mencionar además que Lambl asegura haber visto Diflugias y Arcelas en el moco intestinal de un niño muerto á consecuencia de una enteritis. Esta observación no nos parece absolumente cierta, por mas que no sea inverosímil, porque dichos animalillos son comunes en los estanques y charcas, y pudieron muy bien haber sido introducidos en el tubo digestivo juntamente con aguas fangosas ó impuras.

CERCOMONAS HOMINIS Davaine, 1854.

Este Flagelado pertenece al número de los parásitos intestinales más frecuentes. Descubierto por Davaine en las deyecciones de individuos atacados del cólera y de la fiebre tifoidea, ha sido visto de nuevo posteriormente en enfermedades muy variadas, de suerte que es muy difícil considerarlo como la causa de éstas últimas. Las enfermedades inflamatorias ó los catarros intestinales preparan mucho más aún un terreno favorable á su evolución. Existe por otra parte en personas sanas y la única razón, de por qué no se señala de ordinario su presencia, es que no se practica generalmente el examen microscópico de las deyecciones evacuadas en estado de salud.

La estructura de este parásito es aún poco conocida. Tiene de 10 á 12 μ de largo y de 5 á 6 μ de ancho, y es piriforme. Su extremidad más pequeña está vuelta hacia atrás y se continúa en forma de filamento espeso y rígido, tan largo como el cuerpo; la extremidad anterior lleva uno y hasta tal vez varios largos flagelos por medio de los cuales el animálculo cambia de sitio con vivacidad. Junto á aquéllos se observa una pequeña depresión, que representa una especie de boca.

El *Cercomonas hominis* vive normalmente en el intestino del Hombre, pero puede observársele también en la boca y en el estómago. Á veces sube por el canal colédoco hasta el hígado: Lambl lo ha visto en grandes cantidades en el líquido viscoso que rodeaba á una hidátida de gran tamaño. Se le observa lo mismo en la edad adulta * que entre los niños.† El parásito se reproduce por medio de un activo fenómeno de escisiparidad longitudinal, sin interrumpir por eso sus ágiles movimientos. Ciertos individuos quedan sin embargo inmóviles, pierden su flagelo y su apéndice caudal y se rodean de una delgada membrana. Entonces son evacuados como lo ha reconocido Perroncito ‡ y se dispersan en todos sentidos. Algunos de estos quistos pueden llegar al agua y permanecen en ella sin experimentar ninguna modificación, hasta que la casualidad los lleva á las vías superiores del tubo digestivo. Aun

* A. Håkanson, *Fall of Cercomonas.* Hygiea, XLVII, p. 313, 1885.

† R. von Jaksch, *Ueber das Vorkommen von thierischen Parasiten in den Faeces der Kinder.* Wiener klinische Wochenschrift, 1888.

‡ Ed. Perroncito, *Ueber die Art der Verbreitung des Cercomonas intestinalis.* Centralbl. f. Bacteriologie und Parasitenkunde, IV, p. 220, 1888.

en este caso el enquistamiento es la condición indispensable para la diseminación de la especie, puesto que la Cercomónada es matada rápidamente por el agua.

En la mayor parte de los animales domésticos, especialmente en el Conejo y el Conejo de Indias, se observan parásitos del género *Cercomonas;* en dichos animales no desempeñan ningún papel patogénico; basta pues señalar su presencia y recordar que Perroncito ha observado precisamente el enquistamiento en las Cercomónadas de este último animal.

MONOCERCOMONAS HOMINIS Grassi, 1882.

Este animálculo tiene sensiblemente las mismas dimensiones y estructura que el precedente, en compañía del cual se encuentra en el intestino del Hombre. Difiere no obstante de aquél en la presencia de cuatro flagelos en su parte anterior. En el mismo punto que éstos nace un quinto flagelo, pero se dobla á lo largo del cuerpo, describe sinuosidades y está animado de movimientos ondulatorios.

TRICHOMONAS INTESTINALIS Leuckart, 1879.

He aquí otro parásito que tiene la mayor semejanza con los dos anteriores, especialmente con el *Monocercomonas hominis.*

Como éste, lleva en la parte anterior ó delantera cuatro flagelos, pero el flagelo onduloso y doblado hacia atras está reemplazado por una membrana ondulante poco elevada, que se extiende, siguiendo una línea ligeramente espiral, desde los flagelos hasta el apéndice caudal. Su borde libre es más largo que su borde adherente, de suerte que se muestra plegada y fes-

toneada, de igual modo que la cresta del espermatozoide de los Tritones. Esta membrana contribuye sin duda ninguna á la locomoción, pero su principal papel parece ser el de determinar en el líquido en que vive el animal una corriente que al pasar delante de su boca le lleva de esta suerte las sustancias alimenticias.

La boca se abre en forma de embudo á corta distancia de la base de los flagelos; da acceso á una especie de tubo esofágico bastante rígido y de cierta longitud, abierto en la sustancia del cuerpo. Éste está limitado por una muy delgada cutícula y consiste en un protoplasma granuloso, que contiene un núcleo. La reproducción se verifica por división longitudinal, y la diseminación se realiza sin duda, como en los casos precedentes por medio de quistos, que se dispersan en el espacio y que más tarde ó más temprano se introducen en el tubo digestivo del Hombre. con el agua ó las bebidas; el animal enquistado es capaz de permanecer largo tiempo en estado de vida latente.

Este animálculo tiene de 10 á 15 μ de largo, y de 7 á 10 μ de ancho. Se le encuentra en el intestino lo mismo en los individuos sanos que en el curso de diversas enfermedades (diarrea, fiebre tifoidea, peritonitis, etc.). El célebre naturalista holandés Leeuwenhoek lo conocía ya, á pesar de la muy grande imperfección de sus instrumentos de óptica; pero sus observaciones no llamaron la atención ó se relacionaron falsamente con el *Balantidium coli*. El parásito fué hallado de nuevo en 1875 por Marchand en las deyecciones de un enfermo atacado de tifus; después fué nuevamente visto en el intestino por Zunker en 1878.

Hacia la misma época, Lancereaux * lo encontró en la boca y esta observación fué confirmada por Zunker y Rappin.†

TRICHOMONAS VAGINALIS Donné, 1837.

Esta Tricomónada (Fig. 2) es idéntica á la precedente, de la que sólo se diferencia por el lugar en

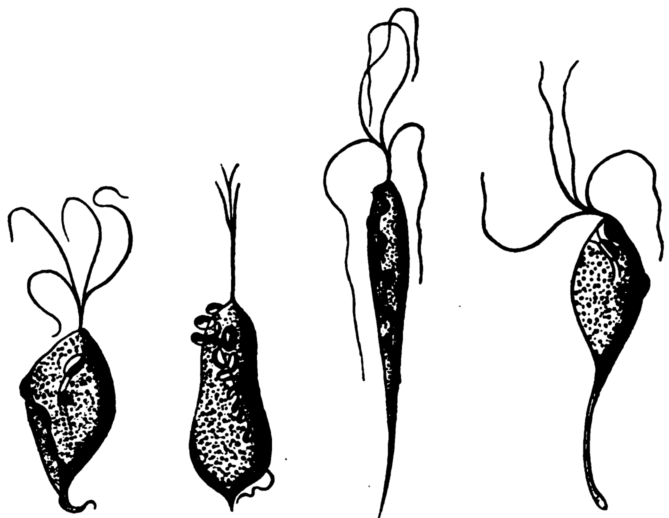


Fig. 2.—TRICHOMONAS VAGINALIS.

que habita. Llevada al nivel de la vulva por el

* E. Lancereaux, *Traité d'anatomie pathologique*, 1875-1877. Véase I, p. 777, fig. 264.

† Höfle (*Chemie und Mikroskop am Krankenbette.* Erlangen, 2. Auflage, p. 61, 1850) dice haber visto con frecuencia en el sarro de los dientes dos especies de Mónadas, una de ellas vibrátil. Ésta última, según la opinión más verosímil, se relaciona con el *Trichomonas intestinalis;* en efecto, la membrana ondulante de las Tricomónadas ha sido largo tiempo considerada como una hilera de pestañas vibrátiles.

agua de las abluciones, se multiplica con extraordinaria actividad en el interior de la vagina, donde pulula en los casos de flujo blanco, de vaginitis, y en otras afecciones, pero es muy rara, y hasta ni se encuentra en absoluto cuando el moco es absolutamente sano y normal.

Este parásito es muy frecuente. Se le encuentra en todas las edades, lo mismo en las niñas de seis á siete años que en las mujeres que han pasado la edad de la menopausa; tanto en las mujeres en cinta como en las que no lo están. Es matado por el agua, y por consiguiente no resiste á las inyecciones reiteradas de agua en la vagina. El paso del flujo menstruo y el trabajo del parto le son igualmente funestos; reaparece seis ó siete días después del parto.

Las cuatro especies de Flagelados cuya historia hacabamos de trazar rápidamente, tienen entre sí extraordinarias semejanzas: el tamaño, y el modo de reproducción y diseminación son idénticos; las diferencias dependen únicamente del número de flagelos y de la presencia ó falta de una membrana ondulante, ó de un flagelo onduloso y doblado hacia atrás.

Ciertamente son éstas diferencias capitales, suponiendo que se funden en observaciones exactas. Ahora bien es permitido dudar de la precisión de éstas últimas, puesto que lo tenue de los flagelos hace que sea muy difícil verlos, y por otra parte las materias fecales y el moco viscoso en que se hallan englobados los animálculos hacen su examen más inseguro aún; de este modo se explican la brevedad y escasa precisión de las primeras descripciones.

Haciendo un estudio atento de los Protozoarios que

viven en el intestino del Hombre, afirma Grassi* haber observado que sólo se encuentran en él siempre dos especies de Flagelados: *Lamblia intestinalis* y *Trichomonas hominis.* Para el naturalista de Catana, éste último resulta de la fusión de las tres primeras especies estudiadas arriba, á saber: *Cercomonas hominis, Monocercomonas hominis* y *Trichomonas intestinalis.* Parécenos conveniente aguardar á nuevas investigaciones antes de decidirse en esta cuestión.

LAMBLIA INTESTINALIS Lambl, 1859.

Este parásito (Fig. 3) ha sido descubierto por Lambl,

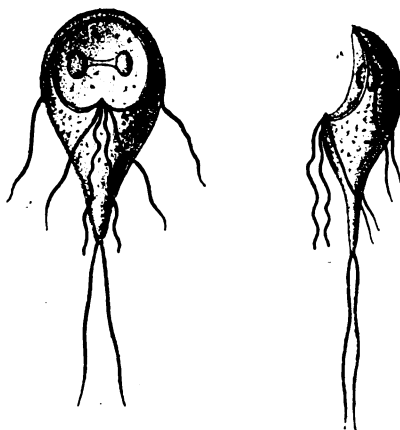


Fig. 3.—LAMBLIA INTESTINALIS VISTO POR EL LADO INFERIOR Y DE PERFIL.

que le confundía con el *Cercomonas hominis;* ha sido

* B. Grassi, *Morfologia e sistematica di alcuni Protozoi parassiti.* Rendiconti della r. Accad. dei Lincei, IV, 8 gennaio 1888.—Id., *Significato patologico dei Protozoi parassiti dell'uomo.* Ibidem, 22 gennaio 1888.

observado por Grassi que ha dado una buena descripción de él.*

Tiene de 10 á 16 μ de largo y de 5 á 7 μ 9 de ancho. Su forma es extraña; puede comparársele á una pera, cuya extremidad más gruesa estuviese cortada oblicuamente en uno de los lados y más ó menos profundamente excavada, en forma de ventosa, de contorno reniforme. El cuerpo es transparente, incoloro, ligeramente granulento y limitado por una fina membrana quitinoide, especie de cordoncillo colocado alrededor de la depresión. En el fondo de ésta se ve un núcleo transversal en forma de balancín ó de herradura. El borde posterior de la depresión se levanta en la línea media, formando una especie de espolón movible normalmente dirigido hacia adelante, pero capaz de doblarse hacia atrás.

El animal está provisto de cuatro pares de flagelos. Los del primer par nacen del polo anterior, fuera del cordoncillo, que rodea la depresión; están dirigidos hacia atrás y hacia fuera, siguiendo el surco que separa el cordoncillo de la superficie; finalmente penden libremente á los lados. Los del segundo par nacen del vértice del espolón y se dirigen hacia atrás, apartándose ligeramente uno de otro; son bastante más espesos y ondulosos que los de los otros tres pares. Los del tercer par se insertan en la vecindad de los precedentes, pero á ambos lados de la base del espolón; también se dirigen oblicuamente hacia atrás y hacia fuera. Por último los flagelos del cuarto par se hallan insertos en la extremidad de la cola y se dirigen hacia atrás, diver-

* B. Grassi und W. Schewiakoff, *Beitrag zur Kenntniss des Megastoma entericum.* Zeitschrift für wiss. Zoologie, XLVI, p. 143, 1888.

giendo ó separándose, como los del segundo par; frecuentemente se yuxtaponen y pegan uno á otro.

Los flagelos tienen una longitud de 9 á 14 μ; los del segundo y tercer par son algo más cortos. Ondulan con bastante lentitud y hasta con frecuencia permanecen inmóviles, cuando el animal está en reposo. Sin embargo los del segundo par están animados de un movimiento incesante y bastante rápido; no ondulan pero se contraen en forma de rosca ó tornillo.

Provisto de estos cuatro pares de *flagelos* el *Lamblia intestinalis* puede nadar con holgura, pero la natación no es su estado normal. Se planta en la superficie de las vellosidades intestinales y aplica exactamente á las células del epitelio su depresión en forma de ventosa, echando el espolón hacia atrás (Fig. 4). La extremidad caudal se halla entonces erguida ó echada hacia adelante.



Fig. 4.—LAMBLIA COLOCADO SOBRE UNA CÉLULA EPITELIAL DE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES.

El *Lamblia* se observa en el intestino delgado del Gato, del Perro, del Conejo y de varios Roedores (*Mus musculus*, *M. rattus*, *M. decumanus*, *M. sylvestris*, *Arvicola arvalis*, *A. amphibius*); es también frecuente en el Hombre. Se halla con preferencia en el duodeno y el yeyuno y se muestra menos abundante en el ileón. Se puede admitir que se multiplica por escisiparidad en el interior del intestino delgado, aunque este fenómeno no ha sido observado aún.

En cuanto á la diseminación se verifica por medio de individuos enquistados. Los quistos (Fig. 5) han sido vistos por Grassi y Schewiakoff, y después por Per-

roncito*; se les encuentra ya en el intestino grueso, donde se mezclan con las materias fecales, siendo evacuados con ellas. Salvo en los casos de diarrea, el animal no está nunca libre en las deyecciones. Por consiguiente es también el agua potable el vehículo por medio del cual penetran en el tubo digestivo los quistos esparcidos casualmente en la naturaleza, y de este modo pueden infectar á individuos hasta entonces indemnes.

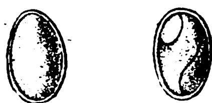


Fig. 5.—Quistos cogidos en el intestino grueso. (En uno de ellos el animálculo es visto de perfil.)

Otras veces los quistos penetran en el tubo digestivo á favor de los alimentos, como por ejemplo en el pan; en la Alta Italia los campesinos tienen la costumbre de conservar su pan en los graneros, en donde las Ratas y Ratones pueden ensuciarlo con sus excrementos.

Este modo de transmisión del parásito ha sido demostrado experimentalmente por Calandruccio. El observador siciliano tragó quistos recogidos por él en las deposiciones de un individuo que albergaba extraordinario número de Lamblias; había tenido cuidado de asegurarse de antemano de que por su parte no estaba infestado de dichos parásitos. Al cabo de 25 días próximamente halló Lamblias en sus deyecciones. Perroncito había obtenido ya un resultado análogo con el Ratón, y Grassi con el Musgaño.

Los parásitos son á veces tan numerosos en el intestino delgado que cubren una parte considerable de la mucosa; en tal caso impiden, en cierta medida, el que la absorción se realice normalmente. Aparte este

* Ed. Perroncito, *Note sur l'enkystement du Megastoma intestinale*. Bull. de la Soc. Zoologique de France, XIII, p. 16, 1888.

ligero inconveniente semejantes huéspedes no parecen ser muy temibles, por mas que Grassi los crea capaces de causar la anemia y la diarrea.

Para terminar con los Flagelados señalemos por último la presencia posible en la superficie de las llagas, de especies que viven normalmente en el agua. Wedl ha visto con frecuencia *Bodo saltans* en úlceras sordidas. Con el tratamiento antiséptico no es ya posible semejante pseudo-parasitismo.

BALANTIDIUM COLI Stein, 1862.

Este Infusorio de forma ovoidal (Fig. 6) pertenece al orden de los Heterótricos; tiene de 70 á 100 μ de largo y de 50 á 70 μ de ancho; en agua límpida los mayores pueden fácilmente distinguirse á simple vista. Su cuerpo está formado de una masa protoplásmica interna finamente granulada ó endoplasma, que encierra gotitas grasas y partículas alimenticias; se han visto en ella glóbulos rojos y granos de almidón. En la periferia del cuerpo se ve una capa de protoplasma claro y transparente ó ectoplasma, que es sobre todo importante en el polo más grueso del ovoide; esta capa encierra un núcleo reniforme en la mitad anterior del cuerpo y dos vacuolos contráctiles en la mitad posterior; se observa á veces un solo vacuolo contráctil, y á veces hay tres.

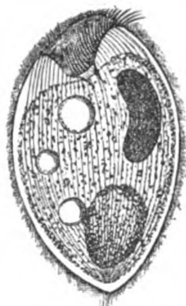


Fig. 6.—BALANTIDIUM COLI.

El polo grueso ó anterior presenta una larga escotadura ó *peristomo*, que se prolonga formando un embudo abierto oblicuamente en la masa del cuerpo, y terminado

por la boca. Ésta se abre directamente en contacto con el endoplasma, que engloba facilmente las partículas puestas en contacto suyo. Los alimentos sólidos no penetran en el cuerpo por otro punto de la superficie, pero las materias líquidas pueden ser absorbidas por ósmosis por la superficie entera; los residuos de la digestión son expulsados por un ano situado en el polo posterior y dificilmente visible fuera del momento de la defecación.

El cuerpo está limitado por una cutícula delgada, cuya superficie está adornada de estrías equidistantes y que van formando espiral de un polo á otro; en sus intervalos y en la superficie entera del cuerpo se implantan unas pestañas cortas vibrátiles, encargadas más especialmente de asegurar la locomoción. Estas pestañas no existen al nivel del peristomo, pero el labio posterior

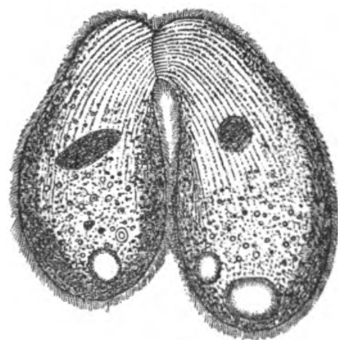


Fig. 7.—Balantidium coli en conjugación.

de éste lleva ó tiene una franja de pestañas más largas y más fuertes, cuyo papel consiste en dirigir los alimentos hacia la boca.

Los diversos procedimientos con arreglo á los cuales se reproducen los Infusorios han sido observados en el

Balantidium coli. La conjugación tiene por consecuencia un rejuvenecimiento del organismo; dos individuos se acoplan ý se fusionan por medio del peristomo, permaneciendo libre el resto del cuerpo (Fig. 7) ; entonces el núcleo de cada uno de ellos se convierte en asiento de importantes modificaciones. Después se separan los dos animálculos y se multiplican activamente por fisiparidad.

Ésta se verifica con arreglo á un plano transversal. Primero se ve aparecer, hacia la parte media del cuerpo, una cintura de largas pestañas vibrátiles, al nivel de la cual no tarda en estrecharse ó adelgazarse el cuerpo, en tanto que se desdoblan el núcleo y los vacuolos contráctiles (Fig. 8 y 9). Cuando la estrangulación está

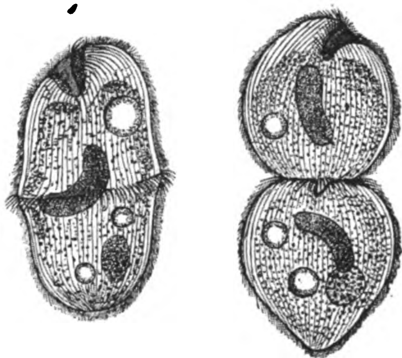


Fig. 8 y 9. – Balantidium coli en vias de reproducción fisípara.

muy avanzada (Fig. 9), el segmento inferior se deprime formando una excavación que se convertirá en peristoma, y al borde de éste se dispone la cintura de pestañas. Finalmente los dos segmentos se separan uno de otro y entran á formar dos individuos distintos.

El *Balantidium coli* no es raro en el ciego y el colón del Puerco, por lo menos en ciertos países de Europa (Alemania, Suecia, Italia, Rusia). Se obtiene facilmente introduciendo una sonda en el ano y sacando por medio de ella un poco de moco ó de materia fecal. La mucosa del intestino está normal y no presenta ni congestión ni hipersecreción; el Puerco no parece pues sentirse incomodado por su parásito.

Éste, más pronto ó más tarde es expulsado con las materias fecales. Bajo la influencia de la desecación languidecen pronto sus movimientos y después se para, se contrae (Fig. 10) y se despoja de sus pertañas; las del peristomo no desaparecen hasta el último instante. El cuerpo presenta entonces el aspecto de una bola de 80 á 100 μ de ancho; la cutícula se va espesando y acaba por aislarse. Si el Puerco evacua sus deyecciones en el agua, el Infusorio continúa viviendo por de pronto, pero al cabo de un tiempo bastante largo, se enquista en la forma que acabamos de indicar, y cae en el estado de vida latente.

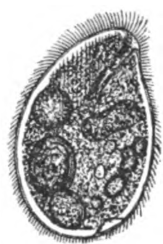


Fig. 10.—BALANTIDIUM COLI CONTRAÍDO.

Puesto que forma siempre su quisto tan pronto como ha abandonado el intestino del Puerco ó Cerdo, el *Balantidium* puede considerarse como esencialmente adaptado á la vida parasitaria y es incapaz de vivir y multiplicarse fuera del individuo que le alberga. La producción del quisto es por otra parte indispensable para asegurar la propagación del parásito; introducido en el tubo digestivo en esa forma resiste á la acción mortífera del jugo gástrico, atraviesa impunemente el estómago y sólo recobra la libertad al hallarse en el

intestino delgado por consecuencia de la ruptura de su envoltura protectora; entonces pasa al intestino grueso y se detiene en él alimentándose y multiplicándose allí activamente. Por el contrario parásitos en movimiento y no enquistados, introducidos experimentalmente en el tubo digestivo del Perro y de otros animales, son matados por el jugo gástrico, pues su delgada cutícula es incapaz de asegurarles una protección suficiente.

Los quistos se producen, pues, más ó menos prontamente en las evacuaciones. La destrucción de éstas los pone en libertad; la lluvia los arrastra á los arroyos y manantiales, el viento los dispersa y los deposita en la superficie de los objetos más diversos. El Cerdo se infesta bebiendo el agua que los contiene ó tragando sustancias inficionadas, y hasta comiendo excrementos.

Las dos primeras condiciones sonigualmente verdaderas en lo tocante al Hombre. Éste en efecto, alberga con bastante frecuencia el parásito, y precisamente en él lo descubrió el profesor Malmstén de Stokolmo en 1856. Desde entonces se le ha observado cierto número de veces en Stokolmo, en Upsal, en Dorpat y en San Petersburgo; se le ha visto además en la Alta Italia, en algunos obreros que trabajaban en la apertura del tunel de San Gotardo, y que estaban atacados de anquilostomasia. Agreguemos también que Treille lo ha encontrado en China y Cochinchina en cierto número de oficiales y marineros atacados de disentería aguda, y que Stokvis* lo ha encontrado en los esputos.

Salvo este último caso, el *Balantidium* no ha sido visto nunca sino en el intestino grueso de individuos

* B. J. Stokvis, *Paramecium in sputa.* Nederl. Tijdschrift voor geneeskunde, (2), XX, p. 4, 1884.

atacados de diarrea de disentería, de ulceraciones y de abcesos intestinales. Su perfecta inocuidad en el Cerdo nos autoriza á pensar que es incapaz de engendrar la enfermedad, pero ésta le prepara un terreno favorable á su desarrollo. Es fácil por otra parte desembarazarse de este parásito; algunas lavativas de agua con una milésima de ácido salicílico lo matan y le hacen desaparecer enteramente al cabo de 4 ó 5 días.

El parásito no ha sido aun señalado ú observado en América, pero es probable que el Puerco ó Cerdo lo haya transportado allá; no será pues extraño el que se le encuentre también en el Hombre.

CAPÍTULO II.

CONDICIONES GENERALES DEL DESARROLLO Y CARACTERES DEL HUEVO DE LOS HELMINTOS.

Los animales que vamos á estudiar ahora pertenecen á la vasta rama de los Vermes, á excepción de una sola especie (*Linguatula rhinaria*), que debe colocarse entre los Artrópodos.

Todos han sido introducidos en el organismo del Hombre ó de los animales por el intermedio de las aguas, pero su diversa manera de proceder con respecto á éstas varía bastante permitiendo establecer diversas categorías.

1º—Gran número de ellos son introducidos en el tubo digestivo en forma de huevos embrionados. El embrión, puesto en libertad por la ruptura del cascarón ovulario, se dirige entonces á los órganos que convienen á su evolución. Según los casos, se detiene en el tubo digestivo y allí pasa directamente al estado sexual, sin realizar emigraciones (*Ascaris, Oxyuris, Trichocephalus*); ó también penetra profundamente en los órganos y pasa al estado de larva, no pudiéndose realizar su última metamórfosis sino por consecuencia de una emigración pasiva, si el individuo que le alberga es presa de otro animal (*Tænia*, *Linguatula*).

2º—Otras veces el embrión sale á luz en el agua; vive en ella más ó menos tiempo, realiza una ó varias mudas ó cambios, pasa al estado de larva, y aguarda en

esta forma á ser tragado por un ser en el que pueda realizar su última metamórfosis y hacerse adulto (*Uncinaria*); la larva acaba por morir al cabo de cierto tiempo, si no es tragada por el ser apropiado.

3º—La larva desarrollada en el agua, como en el caso precedente, pasa á veces al estado adulto; se realiza un acoplamiento, después viene la puesta de huevos, de donde resulta una nueva generación de embriones y de larvas; pero éstas son incapaces de terminar libremente su evolución en el agua, y so pena de perecer en breve plazo, deben ser tragadas por un ser determinado, en él que se convierten en adultas (*Rhabdonema*).

4º—El embrión que sale á luz en el agua está á veces cubierto por pestañas vibrátiles, mediante las cuales nada; si encuentra el animal en el que debe continuar su evolución, penetra en sus órganos ó se deja tragar por él (*Bothriocephalus*, *Amphistoma*, *Distoma*, *Bilharzia*). El parásito, en este primer huésped, llega al estado de larva y no pasa de ahí; no puede hacerse adulto sino en un nuevo medio; ya porque el huésped intermediario sea tragado por otro ser (*Bothriocephalus*), ya porque una forma larvaria especial se desprenda espontáneamente, nade libremente en el agua y sea tragada de esta suerte por el huésped definitivo (*Distoma*).

5º—En ciertos casos excepcionales, el Verme adulto es ovíparo; los embriones puestos en libertad por la ruptura ó putrefacción de su madre, van á parar al agua por casualidad; en ella se muestran muy ágiles

y penetran por sí mismos en el cuerpo de un animal acuático, en el que llegan al estado larvario. Este huésped intermediario, al ser tragado con las aguas potables, es matado por los jugos digestivos, mientras que el parásito continúa su evolución y se hace adulto (*Filaria medinensis.*)

6º—Ó también, sin pasar por el agua, el embrión del parásito es tomado directamente en la sangre por un Insecto que debe servirle de huésped intermediario, y en el que adquiere la forma larvaria. Este Insecto acaba de morir en el agua; por consecuencia de la putrefacción de su cadáver, las larvas quedan en libertad y nadan en el líquido, gracias al cual pueden ser tragadas por un ser capaz de desempeñar el papel de huésped definitivo (*Filaria sanguinis hominis*).

7º—Por último existe toda una categoría de animales que provienen del agua, en la que se encuentran en estado adulto, ya normalmente, ya de una manera accidental (Hirudíneas, *Rhabditis pellio*, *Gordius*).

No son, propiamente hablando, verdaderos parásitos, pero su introducción fortuita en el organismo no deja de causar accidentes dignos de ser señalados aquí.

Podríamos pasar en revista, con arreglo al orden que precede, los diversos parásitos de que acabamos de hablar; pero este orden presenta tales inconvenientes, desde el punto de vista descriptivo, que creemos preferible seguir estrictamente el orden zoológico.

Como se ha visto, los huevos de un gran número de

parásitos pueden encontrarse en el agua; se puede hacer constar su presencia examinando con el microscopio los detritus dejados en los filtros.

Tal huevo, ingerido con el agua, es capaz de producir un embrión directamente perjudicial al Hombre ó á los animales; tal otro no se desarrollará en este medio especial, mientras que otro podrá desarrollarse en ciertos animales pero no en el Hombre; por otra parte podrá ser el punto de partida de una contaminación indirecta de éste último, si el animal que alberga al parásito en estado de larva entra en el consumo de la especie humana.

Es, pues, evidente, que el higienista tiene gran interés en investigar y reconocer los huevos de helmintos que pueden ser arrastrados por las aguas; estos huevos constituyen directamente ó indirectamente, un peligro real para la salud pública, y toda agua contaminada por ellos debe ser rigorosamente rechazada para el consumo, á menos que se tome la precaución de filtrarla con cuidado y, mejor aún, de hervirla antes de filtrarla.

A pesar de su incontestable importancia el estudio de los huevos transmitidos por el agua está aun muy poco adelantado. Debemos, pues, limitarnos á dar en este punto informes sucintos.

Cestodos.—El huevo de los Cestodos no representa mas que una parte del óvulo primitivo (Fig. 11, a); su forma, sus dimensiones, la estructura de su cascarón están muy variables; ofrece sin embargo un carácter fijo y constante, que permite reconocerlo con seguridad. En efecto, en el momento en que sale á luz contiene ya un embrión conocido con el nombre de *oncósfera* ó de *embrión hexacanto*, á causa de tres

pares de ganchos de que está armada su superficie (Fig. 11, B, C; fig. 12, *h*, *i*).

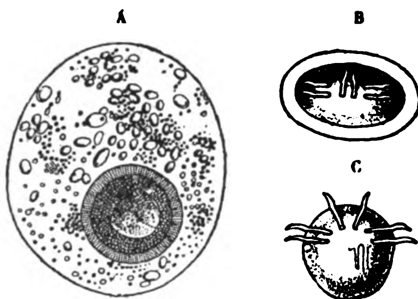


Fig. 11.—Huevos de *Tænia saginata*. A, embrión contenido aún en el cascarón del huevo, encontrándose todavia este último encerrado en la membrana vitelina; B, C, embriónes hexacantos, despojados del corión.

El cascarón es, con frecuencia, esférico ú ovalado, rara vez poliédrico ó en forma de cubo; generalmente anhisto, es á veces granuloso en su superficie, y hasta se halla atravesado en todo su espesor por estrías radiadas (Fig. 11 y 12, *h*, *i*); en la *Tænia* es continua en toda su extensión, mientras que en los Botriocéfalos (Fig. 12, *k*; fig. 25) presenta una valvulita en uno de sus polos. El cuadro siguiente indica las dimensiones medias de los huevos de los Cestodos.

	Caracteres particulares del cascarón.	Dimensiones del cascarón evaluadas en μ.			Dimensiones del embrión.	
		Longitud.	Anchura.	Espesor.	Longitud.	Anchura.
Bothriocephalus felis	oval con válvulita	50-60				
B. latus	idem	68-71	44-45			
Tænia alba	forma cúbica					
T. canina	esférica	37-50			25-33	
T. centripunctata	esférica	21-24				
T. cœnurus	esférica	31-36				
T. crassicollis	esférica	31-37				
T. denticulata	irregularmente cúbica					
T. echinococcus	ovalada y ligeramente granulada en su superficie	30-35	25-27			
T. expansa	poliédrica					
T. flavopunctata	subesférica	60			30	
T. marginata	subesférica	31-36				
T. nana	dos membranas muy distintas	40			23	
T. ovipunctata	subesférica	20	16			
T. saginata	oval con estrías radiadas	36-39	28-35	5,7-6,4	28-32	23-26
T. serialis	oval	34	27			
T. serrata	oval con estrías radiadas	36-40	31-36			
T. solium	subesférica con estrías radiadas	31-36			20	

TREMÁTODOS.—Como sucede en los Botriocéfalos, el huevo de la mayor parte de los Tremátodos es oval y se halla provisto de una valvulilla en uno de sus polos (Fig. 12, *f*, *g*). Parece, pues, difícil, á primera vista, distinguir unos de otros estas dos clases de

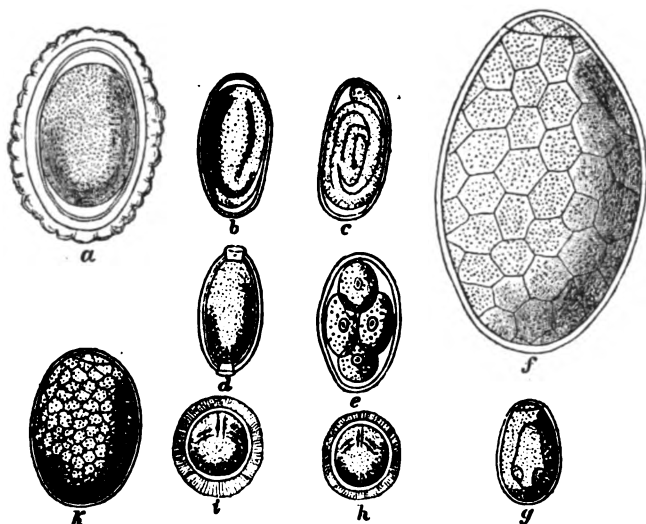


Fig. 12.—Huevos de los principales Vermes intestinales del Hombre, agrandados 400 veces.—*a*, *Ascaris lumbricoides*; *b*, *c*, *Oxyuris vermicularis*; *d*, *Trichocephalus hominis*; *e*, *Uncinaria duodenalis*; *f*, *Distoma hepaticum*; *g*, *Distoma lanceolatum*; *h*, *Tænia solium*; *i*, *Tænia saginata*; *k*, *Bothriocephalus latus*.

huevos. La dificultad parece aumentar considerablemente, si se considera que, en ambos casos, el desarrollo del huevo se verifica en el agua, y que el embrión, puesto en libertad, por haberse levantado el opérculo, está revestido de largas pestañas vibrátiles, por medio de las cuales nada en el líquido ambiente. Pero el

embrión de los Botriocéfalos es globuluso y presenta, debajo de su ectodermo adornado de pestañas, tres pares de ganchitos que faltan siempre en el embrión de los Tremátodos ; éste es más largo, y se halla con frecuencia provisto de manchas óculiformes, de las que ni aún señales se observan en los Cestodos.

Ciertos Tremátodos unisexuales y hematobias tienen un huevo sin valvulilla, provisto en uno de sus polos de una fuerte espina quitinosa destinada á dilacerar los tejidos del huésped que los alberga (*Bilharzia*).

Aparte de esta excepción, la forma es la misma y la estructura del huevo de los Tremátodos no experimenta variación alguna ; sólo las dimensiones están sometidas á muy notables variaciones.

NEMÁTODOS.—Menos complicado que el de los Vermes precedentes, el huevo de los Nemátodos está constituído por un simple óvulo alecito rodeado de una membrana vitelina y de una cáscara ó envoltura quitinosa, generalmente elíptica. Ésta es unas veces delgada y anhista (Fig. 12, *b*, *c*, *e*) y otras más espesa y adornada de esculturas ó dibujos variados (*a*, *d*). No presenta ni micropila ni valvulilla polar, ó por lo menos la existencia de esta última es muy rara (*Oxyuris curvula, Syngamus trachealis*).

El huevo se halla muy desigualmente desarrollado en el momento de la puesta ; unas veces el vitelo se halla aún intacto (*Ascaris*, *a* ; *Trichocephalus*, *d*) ; otras está la segmentación en vías de realizarse (*Eustrongylus*, *Rhabdonema*, *Uncinaria*, *e*) ; otras, por último, el embrión está más ó menos bien formado (*Oxyuris vermicularis*, *b*, *c ; Strongylus suis*). Agréguese á esto que gran número de animales de este grupo son ovovi-

víparos (*Trichina*, *Filaria inermis*, *F. medinensis*, *F. sanguinis hominis*, *F. loa*, *F. immitis*, *Strongylus Arnfieldi*, *S. filaria*, *S. viviparus*, *Spiroptera megastoma*, *S. reticulata*, *S. scutata*, etc.).

Importantes caracteres, deducidos no solamente de la estructura de la cáscara ó cascarón, sino también de su desarrollo, permiten distinguir seguramente el huevo de los Nemátodos. El huevo experimenta una segmentación total y regular (*e*) ; el embrión es vermiforme, está replegado sobre sí mismo (*b*, *c*) y se halla siempre desprovisto de ganchitos, de trompa y de pestañas vibratorias.

Estas nociones generales bastan para caracterizar el huevo de los Nemátodos ; la estructura de su cáscara es demasiado variable, para que no podamos pensar en describirla aquí.

CAPÍTULO III.

CESTODOS.

No estudiaremos aquí mas que los Teniaídeos y los Botriocefaloídeos, únicas familias de Cestodos que atacan al Hombre y á los animales superiores. Estos seres, bien distintos, desde el punto de vista anatómico, no lo son menos cuando se considera su modo de desarrollo y sus emigraciones; ya sabemos qué caracteres importantes distintivos presentan sus huevos.

En estado adulto, estos animales son parásitos del intestino delgado de los Vertebrados. Su cuerpo está formado de una serie lineal de anillos, en número generalmente muy considerable. Los más grandes anillos, es decir, los que están más alejados de la cabeza, han llegado á su madurez sexual; los últimos de entre ellos hasta han reabsorbido más ó menos completamente las glándulas genitales y se han llenado de huevos, cuya diseminación se verifica de modo muy diverso en cada familia.

En los Teniaídeos el aparato reproductor es enteramente reabsorbido y el anillo se transforma de esta suerte en una especie de saco atestado de huevos, que contienen ya el embrión hexacanto (Fig. 11 y 12, *h*, *i*). Los anillos se desprenden entonces espontáneamente, ya solos, ya reunidos en cadenetas más ó menos largas; son evacuados con las materias fecales y una vez que se hallan fuera se putrifican. Los huevos son, al fin,

puestos en libertad; el viento los transporta con el polvo y los esparce en todas las direcciones, en la superficie de los objetos más variados; ó también la lluvia los barre y los arrastra á los arroyos. Lo mismo en uno que en otro caso pueden ser introducidos en el tubo digestivo de algún animal, ya con los alimentos sólidos ya con los bebidas; el embrión hexacanto saldrá de su cáscara ó envoltura, si el huevo no ha permanecido demasiado largo tiempo en el polvo ó en el agua; invadirá los órganos de su huésped y continuará en ellos su evolución, si éste le presenta condiciones favorables. La permanencia del huevo de las Tenias en el agua es, por lo tanto, *facultativa*.

Respecto á los Botriocéfalos, la diseminación de los huevos (Fig. 12, *k*) se verifica de la manera que acabamos de indicar; sin embargo, estos Vermes presentan en la superficie ventral de cada uno de sus anillos maduros un orificio particular que comunica con el fondo del útero y que sirve para la puesta normal de los huevos. Al revés de lo que sucede en las Tenias, el huevo no se halla aún segmentado en el momento de la puesta; no se desarrolla sino al cabo de cierto tiempo y con gran lentitud, en un medio húmedo; para él es *obligatoria* la permanencia en el agua.

I.—TENIAÍDEOS.

Actualmente se conocen cerca 400 especies de Tenias, pero las emigraciones de la mayor parte de ellas son aún ignoradas. Las nociones adquiridas, á este respecto, nos permiten establecer, como regla general, que la larva se encuentra en los animales herbívoros ú omnívoros, y el adulto en los animales

carnívoros ó insectívoros; ahora bien sabido es que los primeros están destinados á ser presa de los segundos.

Conforme á esta ley general no deberían hallarse Céstodos sexuados en el intestino de los animales de régimen exclusivamente vegetal, como los Rumiantes y los Perisodáctilos; pero no sucede así, y los referidos animales se ven invadidos por Tenias cuya procedencia es desconocida aún. Para explicarla se admite generalmente que estos Vermes se desarrollan directamente y realizan su evolución completa en un solo y mismo huésped, que hubiese absorbido su germen ya con el forraje, ya con la bebida. Pero esta opinión no se funda en ninguna observación directa, y no es posible admitirla sin reservas expresas.

Sea como quiera, damos en el cuadro adjunto la lista casi completa de las Tenias, cuyas emigraciones han sido determinadas experimentalmente. Continuamos designando con un nombre particular el estado larvario, como era costumbre antes del descubrimiento de las emigraciones; conocidas éstas, semejante método no puede presentar ningún inconveniente serio; muy al contrario el lenguaje gana con él en brevedad y en precisión.

Larva.	Huésped intermediario.	Cestoideo adulto.	Huésped definitivo.
Cysticercus cellulosae Rudolphi.	Puerco, Hombre.	*Tænia solium* Rudolphi.	Hombre.
C. tenuicollis Diesing.	Monos, Rumiantes.	*T. marginata* Batsch.	Perro.
C. pisiformis Zeder.	Ratón, Conejo, Liebre.	*T. serrata* Göze.	Perro.
C. fasciolaris Rud.	Ratón, Rata.	*T. crassicollis* Rud.	Gato.
C. bovis Cobbold.	Buey.	*T. saginata* Göze.	Hombre.
C. tarandi Moniez.	Rengifero.	*T. Krabbei* Moniez.	Perro.
Cœnurus cerebralis Rud.	Carnero.	*T. cœnurus* Küchenmeister.	Perro.
C. serialis Baillet.	Conejo.	*T. serialis* Baillet.	Perro.
Echinococcus polymorphus Dies.	Carnero, Hombre, Puerco.	*T. echinococcus* von Siebold.	Perro.
Gryporhynchus pusillus von Nordmann.	Tenca.	*T. macropeos* Wedl.	*Nycticorax griseus.*
Gr. pusillus Aubert.	Tenca.	*T. unilateralis* Rud.	*Ardea cinerea.*
Larva innominada.	Cangrejo, *Gammarus pulex.*	*T. tenuirostris* Rud.	*Fuligula marina.*
Id.	Id.	*T. sinuosa* Zeder.	*Anser cinereus.*
Id.	*Cyclops brevicaudatus, C. serrulatus.*	*T. torulosa* Batsch.	*Squalius leuciscus, Idus melanotus, Abramis brama.*

No es posible tratar aquí de cada una de las especies mencionadas en el anterior cuadro. Nos limitaremos á describir rapidamente la marcha general del desarrollo de aquellas cuya larva es un Cisticerco, un Cenuro ó un Equinococo; estas tres formas larvarias caracterizan otras tantas subdivisiones naturales del género *Tænia* y se relacionan por otra parte con las especies más comunes y las que más importa conocer.

Subgénero CYSTOTÆNIA Leuckart, 1863.

El huevo tal como se encuentra en el agua ó en el polvo, es de forma redondeada u ovalada; es fácil de reconocer por la espesa membrana de estrías que le limitan exteriormente (Fig. 11 y 12, *h*, *i*); esta membrana se halla como forrada interiormente por una delgada membrana quitinosa, la cual contiene el embrión hexacanto.

Tan pronto como se introduce en el tubo digestivo de su huésped normal, el huevo es atacado por los jugos: la cáscara se disuelve y el embrión queda en libertad. Vuelve entonces éste á la vida activa, y valiéndose de sus ganchitos para apartar los tejidos, atraviesa la pared del intestino. Cae luego en un vaso sanguíneo y el torrente de la circulación le arrastra á un órgano más ó menos lejano, ó bien sigue caminando á través de los tejidos.

El sitio en donde se fija cambia según la especie: unos van á parar á los músculos voluntarios, como por ejemplo y muy especialmente el embrión de la *Tænia solium*; otros van al hígado, á los pulmones, á la cavidad general, á las meninges, al ojo, etc.; en todos los casos el punto eligido es el tejido conjuntivo ó sus derivados.

Realizada la emigración, el embrión pierde sus seis ganchitos, engorda rápidamente, toma una forma oblonga y pasa al estado de joven larva. Al cabo de algunos días, ésta tiene ya 1 mm. de longitud; su estructura consiste simplemente en una delgada cutícula y en un tejido delicadamente reticulado, cuyas mallas contienen ó encierran un líquido claro y no coagulable. Hacia el 12º día se alarga hasta los 3 mm. y puede realizar ligeras contracciones, por mas que no posea aún fibras musculares.

Hacia el 20º día, la larva crece muy notablemente; su retículo toma el aspecto del tejido conjuntivo; lo poco que queda de la sustancia líquida primitiva se coagula y se convierte en materias minerales, formando de esta suerte los corpúsculos calcáreos. El tejido prolifica muy activamente en el polo anterior de la larva, siguiendo una zona circular, no tomando parte alguna en este trabajo el centro de dicha zona; la extremidad anterior parece pues irse ahuecando en forma de invaginación cada vez más profunda ó *receptaculum capitis* (Fig. 13, *rc*), cuyo fondo no tarda en elevarse formando una especie de brote cefálico, que es el primer rudimento de la cabeza de la futura Tenia.

La larva se presenta entonces con el aspecto vermiforme que indica la figura 13; la cutícula se ve marcada por pliegues circulares, debajo de los cuales se han diferenciado fibras longitudinales (*f*); la parte central del cuerpo presenta una zona granulenta (*g*) en la que el tejido se halla en regresión. Entre tanto, el brote cefálico se perfecciona; en su base aparecen cuatro protuberancias redondeadas, primera indicación de las ventosas; alrededor de su porción anterior aparecen aguijones quitinosos, primeros rudimentos de los gan-

chitos. Dispuestos al principio irregularmente, se regularizan poco á poco, se hacen alternos, y por

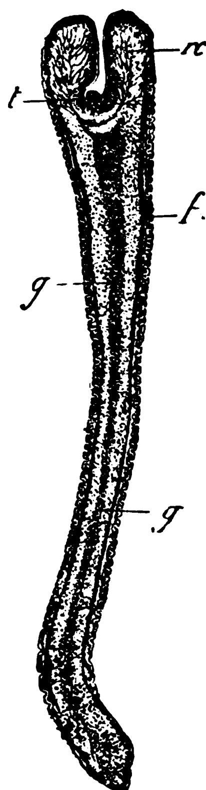


Fig. 13.—*Cysticercus pisiformis*, de un mes de edad proximamente, según Moniez.—*f*, fibras longitudinales que corren por la base de las papilas; *g*, parte central finamente granulada, por la que se verificará el desgarramiento de los tejidos; *p*, papilas; *rc*, *receptaculum capitis*; *t*, brote cefálico.

consecuencia de la atrofia de algunos de ellos, acaban por disponerse formando dos filas.

En un estado más adelantado, la larva ha engordado mucho (Fig. 14). La parénquima se ha destruido en

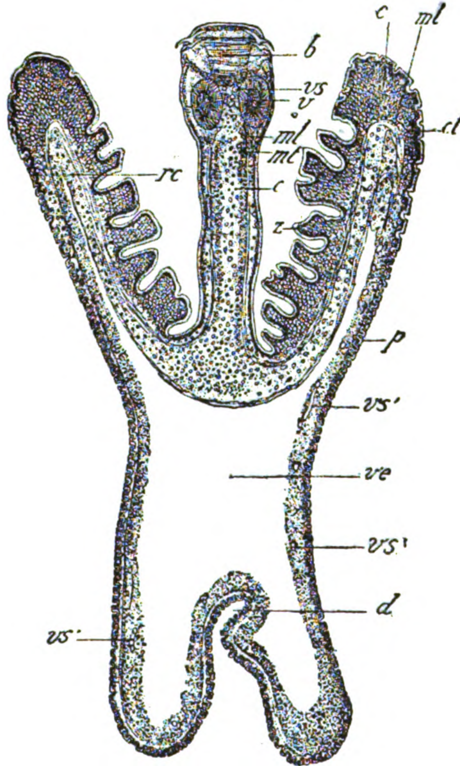


Fig. 14.—Corte del *Cysticercus pisiformis* completamente desarrollado, según Moniez; la cabeza está ya sacada afuera.—*b*, bulba; *c*, corpúsculos calcáreos; *ct*, cutícula; *d*, depresión constante en la partė posterior del Cisticerco debida á la atrofia de la parte posterior del cuerpo; *ml*, fibras musculares longitudinales; *mt*, fibras musculares transversales; *p*, papilas; *pl*, pliegues del *receptaculum capitis*; *v*, ventosas; *vc*, vesícula: *vs*, corte de los vasos longitudinales en el momento en que se anastomosan; *vs'*, corte de los vasos en la vesícula; *z*, zona subcuticular, formada por elementos en vias de proliferación.

toda la parte situada detrás del *receptaculum*, y el cuerpo se ha transformado en un vesícula llena de líquido, *ve*. La larva pasa, pues, al estado de *Verme vesicular* ó de *Cisticerco*. El *receptaculum* se halla entonces muy desarrollado; la cabeza es sostenida por un largo cuello y adquiere su forma definitiva; en ella se ven ya los ganchitos formando una doble corona, cuatro ventosas, *v*, los vasos, *vs*, y unos corpúsculos calcáreos, *c*; los vasos y los corpúsculos calcáreos se hallan de nuevo, por lo demás, en el cuello, en el *receptaculum* y hasta en el espesor de la vesícula. Posteriormente ésta se distiende considerablemente y toma una forma globulosa ú ovoídea; la cabeza y el cuello se repliegan al *receptaculum*, cuyo orificio es muy estrecho, y que en sí mismo, no es mas que una modificación local de la pared de la vesícula.

En este estado, el Cisticerco no puede experimentar ninguna modificación nueva, en tanto que permanezca hundido y oculto en los órganos de su huésped; no puede continuar y acabar su evolución, es decir transformarse en un animal adulto y sexuado, mientras no pase al intestino de un ser capaz de albergar al primero. Por lo que respecta á la *Tænia solium*, concíbese facilmente cómo se verifica esto. Basta que el Hombre coma, sin haberla sometido de antemano á una cocción suficiente, carne de Cerdo infestada de Cisticercos (Fig. 15); éstos llegan vivos al tubo digestivo; resisten á la acción del jugo gástrico y del jugo pancreático, sacan afuera su cuello y su cabeza y se fijan en la mucosa intestinal, por medio de sus ventosas; entonces se produce una estrangulación en la base del cuello, la vesícula se desprende arrastrando consigo el *receptaculum* y he aquí los Cisticercos convertidos en Tenias jóvenes (Fig. 16).

Nutridas abundantemente por las materias alimenticias que acaban de sufrir la acción digestiva, crecen rápida mente; su cuello se segmenta en una serie de anillos, al principio casi imperceptibles, pero que se van

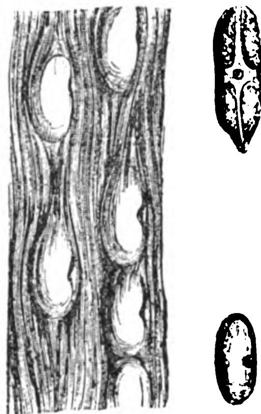


Fig. 15.—Ladrería del Cerdo. Á la derecha se ven dos Cisticercos aislados de su quisto adventicio.



Fig. 16.—Cabeza del *Tœnia solium* joven en diferentes estados de contracción, según Leuckart.

agrandando y señalando cada vez más, á medida que se forman sin cesar anillos nuevos detrás de la cabeza. Todos estos anillos son al principio neutros; pero los más antiguos no tardan en adquirir un aparato genital

masculino y después un aparato femenino, constituyéndose de este modo el estado sexual. La evolución de la Tenia está pues acabada, puesto que en adelante asistimos á la producción de los huevos, punto de partida de nuestro estudio.

En los Cestodos que pertenecen á esta categoría, la larva es un Cisticerco que, en su faz externa, sólo presenta una cabeza; es pues un Cisticerco monosomático y monocéfalo. El Verme adulto tiene ordinariamente la cabeza coronada por un rostelo, en torno del cual hay una doble corona de ganchitos alternativamente grandes y pequeños (Fig. 17, 18 y 19); el número y



Fig. 17.—Cabeza de *Tænia solium* vista de perfil y agrandada 45 veces, según Leuckart.

talla de éstos varían bastante notablemente de una especie á otra, así como también las dimensiones de la cabeza y de las ventosas.

Aunque desprovista de rostelo y de ganchitos la *Tænia saginata* (Fig. 20) pertenece, sin duda ninguna, al subgénero *Cystotænia*: excepción hecha de su estado inerme, presenta la mayor semejanza de estructura y evolución con las formas armadas del mismo género.

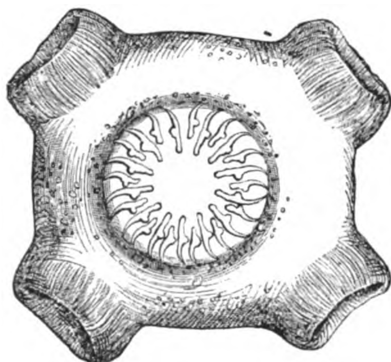


Fig. 18.—Cabeza de *Tænia solium* vista de frente y agrandada 80 veces, según Leuckart.



Fig. 19.—Ganchitos de *Tænia solium*, agrandados 280 veces, según Leuckart.

Subgénero Cœnurus Rudolphi, 1810.

Este subgénero merece apenas figurar aquí, porque la introducción de sus huevos en el tubo digestivo de los animales apropiados se verifica más bien por medio de los pastos, que por medio del agua.

Tænia cœnurus Küchenmeister vive en el intestino delgado de los Perros; se la encuentra en Europa en el 1.58 °/₀ de los casos; tiene de longitud de 0 m. 30 á 1 metro. Sus huevos son casi esféricos y miden de 31 á 36 μ. Esparcidos en las hierbas por los Perros de ganado, son tragados por los Carneros ó por otros

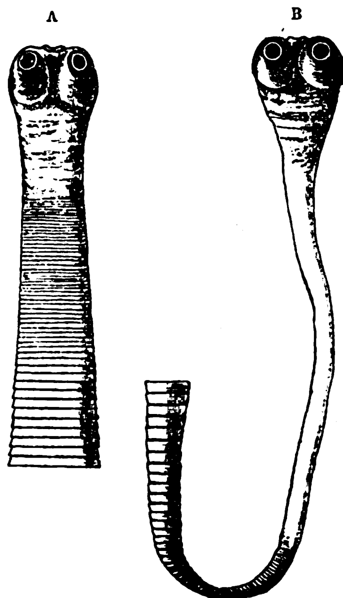


Fig. 20.—Extremidad anterior de *Tænia saginata*, agrandada 8 veces, según Leuckart.—A, en estado de contracción; B, en estado de extensión.

herbívoros tales como el Buey y la Cabra. Los embriones hexacantos emigran al cerebro ó á la médula espinal, y raras veces se los encuentra en el tejido conjuntivo ó bajo la piel; su presencia en los centros nerviosos produce una enfermedad especial, la modorra.

Los Císticos que resultan de su transformación se desarrollan casi de la misma manera que los Cisticercos; sin embargo difieren de éstos en que su superficie externa da origen, no á una cabeza única, sino á mayor número de cabezas, agrupadas acá y allá, y que llegan á un grado desigual de desarrollo. Son pues Cisticercos polisomáticos y monocéfalos.

Tænia serialis Baillet se parece mucho á la especie precedente. Su Cístico vive en el tejido conjuntivo de diferentes Roedores, especialmente del Conejo casero y de la Liebre. Se hace igualmente adulto en el intestino del Perro, del Lobo y del Zorro.

Subgénero Echinococcus Rudolphi, 1810.

Este subgénero no comprende mas que una sola especie, *Tænia echinococcus* von Siebold. Es un Verme muy pequeño, de 3 á 4 mm. de largo y está formado únicamente de 3 ó 4 anillos (Fig. 21); su rostelo lleva



Fig. 21.—*Tænia echinococcus* **agrandada 12 veces.**

una corona de 28 á 50 ganchitos (Fig. 22). El huevo es ligeramente ovalado (Fig. 23); su cáscara está debilmente granulada, pero no atravesada por estrías radiadas.

El Cístico es polisomático y policéfalo. Se desarrolla en el hígado ó el pulmón del Carnero, del Hombre y de algunos otros seres, en una vesícula que llega á veces, y hasta excede, al tamaño del puño ó de una cabeza de niño; se le da comunmente el nombre de Hidátida ó de Equinococo (*Echinococcus polymorphus* Diesing). Esta vesícula está limitada por una cutícula formada



Fig. 22.—Gancho de *Tænia echinococcus* agrandado 900 veces.

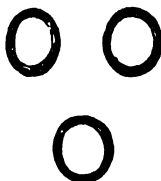


Fig. 23.—Huevos de *Tænia echinococcus* agrandados 245 veces.

por un número más ó menos grande de laminillas estratificadas, y se halla interiormente forrada por una *membrana germinal* de naturaleza celular. Sin perder su forma ó estructura primitiva, la Hidátida puede adquirir un tamaño considerable y perseverar en dicho estado; entonces constituye un *Acefalocisto.*

Lo más frecuentemente no es éste mas que un estado transitorio, y la membrana germinal llega á convertirse en teatro de interesantes fenómenos de desarrollo de brotes, que vienen á parar en la producción de cabezas de Tenias. Levántase en forma de pezón que se

ahueca formando una cavidad (Fig. 24, *a*, *b*) y se reviste interiormente de una delgada cutícula. Esta cavidad ó *vesícula prolífera* crece considerablemente, se pediculiza, y brota á su vez por su faz interna; de

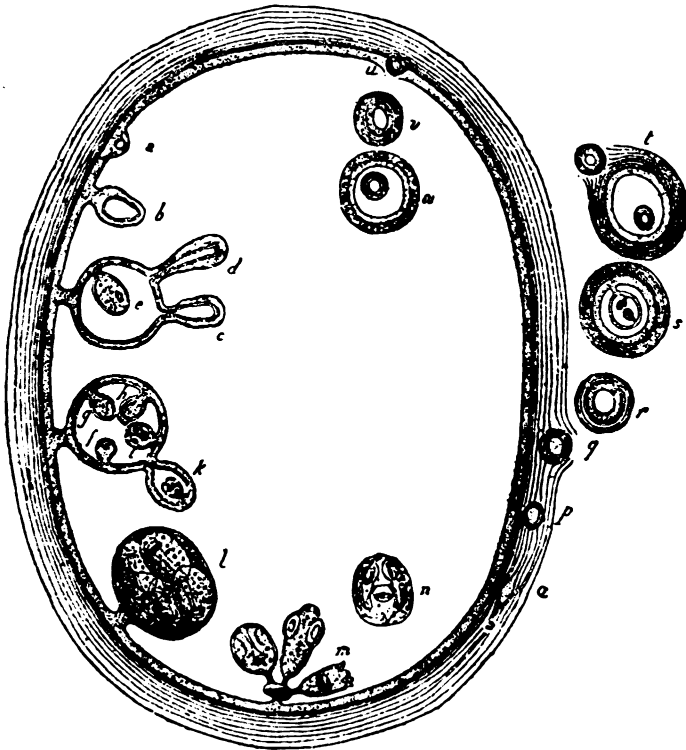


Fig.24.—Figura teórica que representa los diversos modos de multiplicación del Equinococo.

este modo se forman progresivamente hasta 20 cabezas de Tenias (*f*, *k*). Cuando éstas se han desarrollado por completo (*l*) se muestran como invaginadas en sí

mismas, y llenan, por completo, la vesícula prolífera, cuya pared, muy adelgazada, acaba por estallar (*m*); frecuentemente se desprenden también algunas cabezas y caen en el líquido hidático (*n*).

Acabamos de describir el proceso con arreglo al cual se verifica normalmente el desarrollo de las cabezas de *Tænia*. Hay otro procedimiento muy frecuente y que merece ser indicado. Al nacer en la parte profunda, en contacto con la misma membrana germinal, las nuevas capas cuticulares pueden arrastrar consigo algunas partecillas del tejido de la misma. Este tejido activo se rodea entonces de una cutícula estratificada, crece á medida que se aproxima á la superficie de la Hidátida, y finalmente queda en libertad. Entre tanto se ha ido formando en él una cavidad (*p*, *q*, *r*) en la que se desarrollan, por el procedimiento habitual, vesículas prolíferas, que producen cabezas (*s*). De esta suerte se origina una *vesícula hija* ó *vesícula exógena*. Por el mismo procedimiento pueden nacer *vesículas endógenas* (*u*, *v*, *x*). Las vesículas hijas pueden por último dar origen á *vesículas nietas*, exógenas ó endógenas (*t*, *x*).

Como sucede con los Cenuros, es seguro que el Carnero y el Buey hallan en los pastos los huevos de donde nacen los Equinococos; para estos animales herbívoros el agua no desempeña sino un papel muy secundario como fuente de infección; este papel predomina, por el contrario, cuando se trata de explicar el desarrollo de las Hidátidas en la especie humana.

II.—Botriocefaloídeos.

Hay que establecer dos categorías entre los Botriocefaloídeos: unos (*Bothriocephalus Mansoni*) se hallan en

el Hombre, en estado de larva; otros (*B. latus*) se encuentran en él en estado adulto. En el primer caso, la transmisión del parásito es directa ó primitiva, por haber adquirido el Hombre el germen en el agua; en el segundo caso es indirecta ó secundaria por haberse realizado el estado larvario en un primer huésped, comido después por el Hombre.

Bothriocephalus Mansoni Cobbold, 1883.

Los primeros desarrollos de este gusano son desconocidos; por lo que se sabe de la evolución de los Botriocéfalos, puede darse por supuesto que el huevo se desarrolla en el agua y da origen á una larva con pestañas que nada libremente y es tragada casualmente por el Hombre con el agua potable. El ectodermo pestañoso es arrojado fuera y el embrión hexacanto, quedando de esta suerte en libertad, atraviesa la pared del tubo digestivo y se dirige al tejido conjuntivo en donde pasa al estado de larva. Ésta no puede hacerse adulta sino en un nuevo huésped; las condiciones especiales gracias á las cuales el Hombre casi nunca llega á ser presa de una especie animal carnívora nos demuestran que el Hombre no es el huésped intermediario normal del *Bothriocephalus Mansoni.*

Este parásito ha sido descubierto por Patrick Manson, de Amoy, en un Chino; en el tejido conjuntivo subperitoneal del mismo había 12 ejemplares, y otro se hallaba en libertad en la pleura derecha.

La existencia de este mismo helminto en el Japón ha sido demostrada recientemente por Ijima y Murasa,*

* Ijima and Murasa, *Some new cases of the occurrence of Bothriocephalus liguloides Lt.* Journal of the College of Sciences of the Imp. University of Japan, Tokio, II, p. 149, 1888.

que pudieron observarle siete veces, no ya en cadáveres, sino en individuos vivos. Puede llegar á tener una longitud de 364 mm. y una anchura de 12 mm.; se contrae muy fuertemente en el alcool. Los enfermos observados por estos autores tenían de 9 á 42 años; dos unicamente pertenecían al sexo femenino. El parásito fué expulsado espontaneamente por la uretra en tres casos; en los otros tres se manifestó bajo la conjuntiva, siendo fácil su extracción; en fin el último caso se refiere á un soldado joven, que, después de sufrir durante nueve años una tumefaccion en el muslo, vió abrírsele en la cara interna y en el tercio medio de aquella, un abceso por el cual fué expulsado un Verme.

BOTHRIOCEPHALUS LATUS Bremser, 1819.

El huevo es obscuro y perfectamente elíptico (Fig. 25); tiene de 68 á 70 μ de largo y de 44 á 45 μ de ancho; el cascarón es algo espeso y presenta en uno de sus polos un opérculo, que se va haciendo cada vez más aparente, á medida que adelanta el desarrollo. Éste se verifica únicamente en el agua con gran lentitud, y

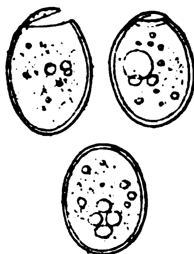


Fig. 25.—Huevos de *Bothriocephalus latus* agrandados 245 veces.

exige semanas ó meses. Cuando está terminada, el embrión levanta la valvulilla y queda en libertad. Nada

lentamente en el agua y se presenta bajo el aspecto de un animalillo esférico de 45 á 50 μ de ancho; su ectodermo, de 10 μ de espesor proximamente, está cubierto de pestañas vibrátiles muy espesas y largas (Fig. 26); el interior del cuerpo está ocupado por una masa celular redondeada, en cuya superficie se ven claramente tres pares de ganchos semejantes á los de los embriones de las Tenias.

El embrión nada también durante varios días, exponiéndose á ser tragado por algún animal. Si no



Fig. 26.—Embrión pestañoso, recién salido á luz.

encuentra ninguno ó no es tragado por el animal que conviene, no tarda en perecer; en el caso contrario pierde su ectodermo pestañoso, atraviesa la pared del tubo digestivo con ayuda de sus ganchitos y se dirige al tejido conjuntivo de diversos órganos.

El estado larvario del Botriocefalo se verifica en ciertos Peces de agua dulce. Á pesar de múltiples tentativas, Schauinsland no ha podido ver á los embriones, introducidos en gran número en el estómago de Lotas jóvenes, atravesar la pared intestinal ni sufrir la menor modificación ni aun al cabo de 24 horas; los

volvía á encontrar vivos, rodeados, en su mayor parte, por su ectodermo vibrátil y acumulados principalmente en los apéndices pilóricos. Por esta razon piensa que la larva no se desarrolla en estos Peces, sino en otros animales que son luego presa de las Lotas, de suerte que el Verme se vería obligado á pasar por varios huéspedes antes de llegar al Hombre.

Sospechábase desde hace largo tiempo que la larva era albergada por Peces de agua dulce, pero no se sabía exactamente qué especie lo hacía, cuando en 1881 y 1882 Max Braun, profesor entonces en la Universidad de Dorpat, demostró con experimentos precisos que el Sollo (*Esox lucius*) es el huésped intermediario del parásito. Desde entonces acá se ha demostrado lo mismo con respecto á la Lota (*Lota vulgaris*), la *Perca fluviatilis* y varios Salmonídeos (*Salmo salar*, *S. umbla*, *Trutta vulgaris*, *Tr. lacustris* y *Thymallus vulgaris*). En el Japón, donde el parásito es común, es también un Salmonídeo (*Onchorhynchus Perryi*) el que lo transmite al Hombre.

La larva ó Plerocercoide es vermiforme, en forma de cinta y no vesiculosa; proviene sin duda del embrión hexacanto por simple prolongación. Se la encuentra indiferentemente en todos los órganos, pero preferentemente en el tejido muscular. No se halla nunca enquistada, sino simplemente alojada en un canal abierto por ella y en el que puede cambiar de sitio confusamente. Su longitud varía entre 8 y 30 mm.; representa, propiamente hablando, la parte anterior de un Botriocéfalo, es decir la cabeza y el cuello. Estas partes, en efecto, están normalmente conformadas, pero el cuello queda inapto para producir anillos por medio de una serie indefinida de brotes sucesivos. Esta nueva y última

etapa del desarrollo no puede ser recorrida sino en el caso en que el Pescado que alberga la larva llega á ser comido, crudo ó mal cocido, por el Hombre ó por un animal tal como el Perro y el Gato.

Nada sabemos aún de la existencia del *Bothriocephalus latus* en América. No es imposible que huevos evacuados por un individuo que hubiese adquirido el Verme en Europa ó en el Japón llegasen algún día á infestar ciertas aguas visitadas por Salmonídeos. Concíbese, entonces, que el parásito no tardaría en diseminarse por el Nuevo Mundo.

CAPÍTULO IV.

TREMÁTODOS.

Los Distomianos ó Tremátodos provistos, cuando más, de dos ventosas, deben sólo ocuparnos aquí. Viven como parásitos en el interior de los órganos y presentan fenómenos complicados de generación alternativa. Para ellos, por lo menos para las especies que nos interesan es estrictamente obligatoria la permanencia del huevo en el agua. Del huevo sale un embrión pestañoso, que nada en busca de un animal acuático, generalmente de un molusco, en el que pueda continuar su desarrollo y pasar al estado larvario. Tragando, pues, á este huésped intermediario es como el Hombre y los animales superiores pueden ser inficionados. Sin embargo la larva última ó *Cercaria* es capaz de abandonar espontáneamente á su huesped, y de nadar activamente en el agua; concíbese que pueda ser deglutida al mismo tiempo que ésta, ó con las plantas acuáticas sobre que se halle posada.

La gran Duva del hígado (*Distoma hepaticum*) es, entre todos los Tremátodos que atacan al Hombre y á los animales domésticos, casi la única cuyo ciclo evolutivo ha sido estudiado; la pequeña Duva del hígado D. *lanceolatum*) comienza también á ser muy conocida en el mismo sentido. Vamos á trazar rápidamente la historia de las emigraciones de estos dos helmintos.

DISTOMA HEPATICUM Retzius, 1786.

Este parásito vive normalmente en los canales biliares del hígado del Carnero, del Buey y aun del Hombre; es

hermafrodita y pone huevos, que arrastrados por la bilis hasta el intestino, son arrojados fuera con las deyecciones.

El huevo (Fig. 12, *f*) es ovoídeo y se halla limitado por una envoltura anhista y transparente de un color obscuro amarillento. Mide por término medio 130 μ por 80 μ; su extremidad anterior está algo más redon-

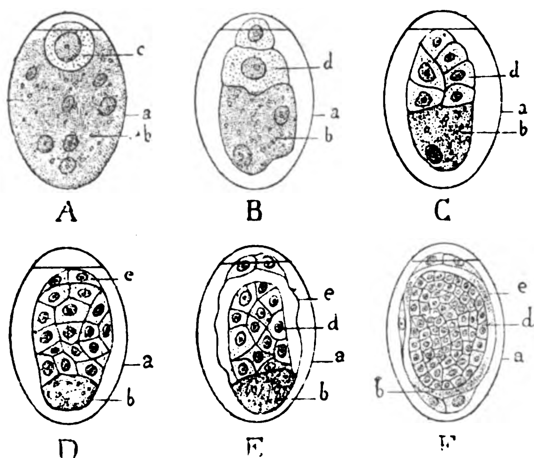


Fig. 27.—Diversas fases del desarrollo del embrión de los Dístomos.— *a*, envoltura ó cáscara del huevo; *b*, *vitellus* nutritivo; *c*, *vitellus* formativo, ó celula ovulàr; *d*, blastómeras procedentes de la segmentación de la célula ovular, y que van á parar en la formación de la mórula; *e*, células polares que dan origen al corión.

deada que la posterior; cerca del polo anterior se ve una línea circular ligeramente ondulada, que limita un operculo de 28 μ de ancho. Así constituído este huevo se parece mucho al de *Bothriocephalus latus* (Fig. 12, *k*; Fig. 25) pero se distingue de él no obstante por su talla casi doble. La segmentación empieza cuando el huevo desciende al oviducto (Fig. 27); la puesta tiene lugar

antes de que aquélla termine, de suerte que las últimas fases del desarrollo se verifican en el agua ; su rapidez está en razón directa de la temperatura.

Cuando el embrión está pronto á salir presenta el aspecto que indica la figura 28. Es un animálculo prolongado junto al que se ven aún los restos del *vitellus* de nutrición, *c*. Está limitado por un ancho epitelio, *e*,

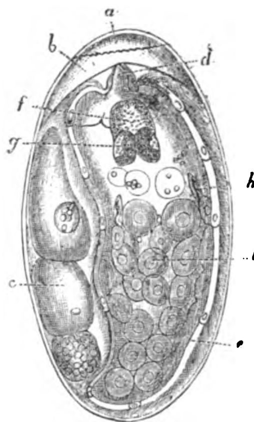


Fig. 28.—Huevo que contiene un embrión pronto á salir á luz.—*a*, opérculo ; *b*, capuchón de moco contra el que se apoya la extremidad cefálica del embrión ; *c*, residuos vitelinos ; *d*, rostelo ó papila cefálica ; *e*, epidermis vibrátil ; *f*, rudimentos del aparato digestivo ; *g*, manchas oculares ; *h*, embudo pestañoso ; *i*, célula blastomérica que llena la cavidad del cuerpo.

cubierto de largas pestañas vibrátiles en toda su extensión salvo en la extremidad anterior en la que se distingue un rostelo ó papila cefálica, *d*. Este rostelo está siempre vuelto hacia el lado del opérculo, *a*, y se apoya contra una masa mucosa que forma una especie de cojinete, *e*.

El embrión es entonces capaz de vivir libremente ; hace saltar la valvulita del huevo y abandona la cáscara:

sus pestañas vibrátiles entran en movimiento tan pronto como tocan el agua y se aleja rapidamente. Tiene una longitud media de 130 μ y una anchura de 27 μ en la extremidad anterior; su rostelo es retráctil. Por debajo de la epidermis y en la región anterior presenta dos manchas pigmentarias que tienen el aspecto de medias lunas adosadas por el lado convexo, y que desempeñan sin duda el papel de órganos visuales (Fig. 28 y 31, *g*). Posee además un aparato representado por dos embudos pestañosos (Fig. 28, *h*) y en la parte posterior del rostelo una masa granulosa que debe ser un aparato digestivo rudimentario, *f*. El resto de la cavi-

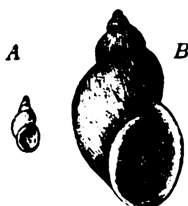


Fig. 29.—*Limnaea truncatula.*—A, de tamaño natural; B, agrandada tres veces y media.

dad del cuerpo está ocupado por células granulosas que proceden directamente de las células de segmentación, *i*.

Constituído de este modo el embrión nada sin tregua ni reposo. Si llega á ponerse en contacto con algún objeto, se detiene un instante como para reconocer la naturaleza de la misma; si no queda satisfecho de este examen se aleja apresuradamente, y no se detiene hasta que encuentra al fin el huésped en el que debe continuar la serie de su desarrollo; en el caso contrario sus movimientos aflojan y muere, al cabo de unos ocho días.

El huésped intermediario es un pequeño Gasterópodo de agua dulce, *Limnaea truncatula* (Fig. 29), como lo

han demostrado R. Leuckart en Alemania y A. P. Thomas en Inglaterra. En una especie vecina, *L. peregra* (Fig. 30), puede el parásito continuar su desarrollo durante cuatro ó cinco semanas, pero acaba por morir.

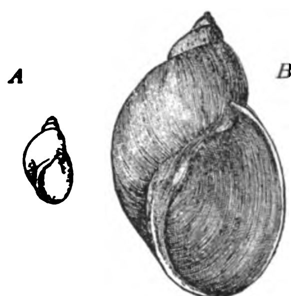


Fig. 30.—*Limnaea peregra.*—A, de tamaño natural; B, agrandada tres veces y media.

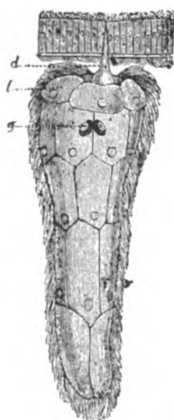


Fig. 31.—Embrión en actitud de perforar los tejidos del Molusco:—*l*, célula en forma de charretera de la primera fila; *d* y *g* como en la fig. 28.

Tan pronto como encuentra el Molusco, el embrión empieza á perforar el tejido (Fig. 31); saca su rostelo

y gracias á él se abre bien pronto una brecha. Húndese de este modo en el cuerpo de la Linnea penetrando con preferencia en la cámara respiratoria. Una vez llegado al seno de un órgano conveniente pierde su capa externa de células pestañosas y se transforma en un Esporocisto inerte, elíptico de 70 μ de largo; crece y en el espacio de dos á cuatro semanas llega á tener 150 μ; continúa luego creciendo y llega á tener de 0 mm 5 á 0 mm 7.

La cavidad de su cuerpo está llena de una masa de células claras y redondeadas llamadas *celulas germinatorias*; algunas se derivan tal vez de las células blastodérmicas, pero la mayor parte nacen del epitelio interno. Ciertas células de éste se dividen en 2, 4, 8, 16 y más células que se colocan formando una especie de morula. La masa así formada se desprende, y cae en la cavidad general; invagínase entonces en sí misma y se transforma en una gastrula que se organiza poco á poco en forma de *Redia*. Cada morula hace otro tanto, de suerte que el Esporocisto da origen á gran número de Redias, que lo abandonan una tras otra desgarrando su pared.

Una vez libre la Redia se encamina á través de los tejidos de su huésped y va á fijarse en diversos órganos, pero sobre todo en el hígado. Crece allí hasta tener una longitud de 1 mm 3 á 1 mm 6; entonces tiene una forma cilíndrica alargada (Fig. 32). Las células de su epitelio interno se conducen de la misma manera en los Esporocistos; existe sin embargo una diferencia importante, que dependen de que según circunstancias mal determinadas, la gastrula produce una Redia hija ó una Cercaria; estos dos modos especiales de evolución de la masa celular pueden, por otra parte, observarse en una misma Redia madre.

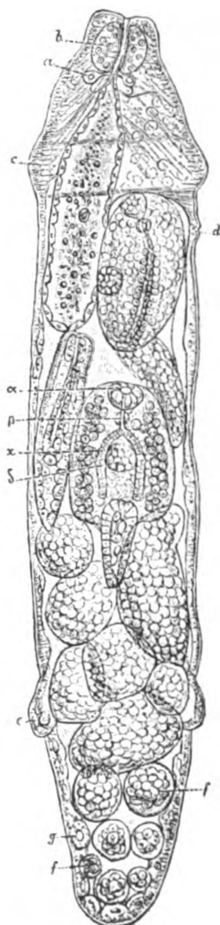


Fig. 32.—Redia adulta que contiene una Redia hija, una Cercaria que se acerca á su maduraez, otras dos Cercarias más jóvenes y gérmenes de todas dimensiones.—*a*, células glandulares; *b*, faringe; *c*, collar; *d*, orificio de eclosión; *e*, apéndices posteriores que representan miembros rudimentarios; *f*, gérmenes en diversos estados de desarrollo; *g*, célula germinativa.—Las letras griegas se refieren á la Cercaria: *α*, ventosa bucal; *β*, esófago; *x*, ciego intestinal; *δ*, rudimentos de la ventosa ventral.

Ésta presenta un orificio de eclosión (Fig. 32, *d*), por el cual salen los animálculos que han nacido en su interior. La Cercaria continúa arrastrándose y serpeando con ayuda de sus ventosas y de su cola hasta que llega al exterior del Molusco; una vez en libertad es muy ágil y presenta incesantes cambios de forma. Es de forma oval y deprimida (Fig. 33); tiene 0 mm 28 de



Fig. 33.—Cercaria libre.—*a*, ventosa bucal; *b*, faringe; *b'*, esófago; *c*, ciego intestinal; *d*, ventosa ventral; *e*, células cistógenas.

larga y 0 mm 23 de ancha por término medio; lleva una cola muy contráctil cuya longitud es por lo menos el doble de la del cuerpo.

Distínguense pues en este último, una ventosa bucal, *a*, un bulbo faríngeo, *b*, dos ciegos intestinales, *c*, y una ventosa ventral, *d*; las partes laterales del cuerpo están

ocupadas por gruesas células granulosas ó *células cistógenas*, *e*, cuya función vamos á conocer al instante.

Sin embargo la Cercaria libre no nada largo tiempo en el agua; se detiene pronto en la superficie de un cuerpo sumergido, por ejemplo en una planta acuática. Allí se redondea y pierde su cola al mismo tiempo que las células cistógenas segregan un mucus abundante que lubrifica toda la superficie del cuerpo; prodúcese de esta suerte en torno del animalillo una envoltura muy espesa que se endurece casi en seguida.

Fácil es comprender cómo penetra la Cercaria en los Mamíferos herbívoros, en cuyo hígado llegan al estado adulto; la infestación puede verificarse de diversas maneras.

La *Limnaea truncatula* es anfibia; se la encuentra muy frecuentemente fuera del agua. Despues de las lluvias abundantes se mantiene oculta en la hierba al borde de los fosos; vive entre el césped mientras éste conserva la humedad; durante la sequía se recoge en su concha y permanece más ó menos tiempo en una especie de vida latente. Al pacer en las praderas el ganado podrá pues deglutir, al mismo tiempo que los pastos. Limneas infestadas de Redias maduras ó de Cercarias ya salidas á luz. La ingestión de éstas será más fácil y su transformación en Dístomos adultos sera más segura, si son llevadas al tubo digestivo con el agua en que nadan ó con las plantas tales como los Berros en que se hallan enquistadas.

Tan pronto como ha penetrado en su huésped definitivo la joven Duva sube por el canal coledoco hasta los canales biliares; no tarda en adquirir órganos genitales reuniendo los dos sexos en un solo individuo. In-

mediatamente pone huevos que pueden, á su vez, recorrer el ciclo que acabamos de trazar ó describir.

Distoma lanceolatum Mehlis, 1825.

Los detalles en que hemos entrado á propósito de la Duva hepática nos dispensarán de insistir acerca de la historia de la Duva lanceolada y de otros Tremátodos.

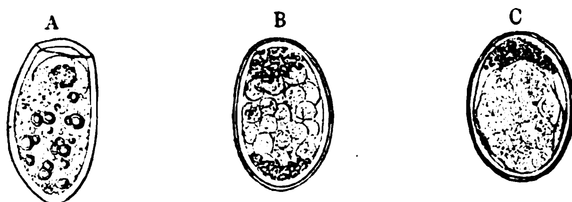


Fig. 34.—Desarrollo de *Distoma lanceolatum.*—A, antes de la segmentación; B, segmentación; C, formación de la capa cuticular.



Fig. 35.—Embriones de *Distoma lanceolatum.*—A, en estado de reposo; B, en estado de reptación.

El huevo del *Distoma lanceolatum* (Fig. 12, *g*; Fig. 34) tiene de 40 á 45 μ de largo, pór 30 μ de ancho; es pues mucho más pequeño que el de la especie precedente; presenta por otra parte también una valvulilla en el polo más delgado. Se desarrolla igualmente en el agua (Fig. 34) y da origen á un embrión infusoriforme, pestañoso sólo en su mitad anterior (Fig. 35). Éste va á

alojarse en los órganos del *Planorbis marginatus*, donde experimenta transformaciones analogas á las que hemos indicado en el caso anterior. La infestación del Hombre y del ganado se verifica también en condiciones análogas.

Distoma hepaticum y *D. lanceolatum* son las únicas especies parásitas del Hombre y de los animales domésticos cuyas emigraciones nos sean conocidas. Los otros Distomoídeos del Hombre evolucionan seguramente según condiciones análogas.

El primero de los cuadros siguientes indica los principales caracteres distintivos de estos helmintos; el segundo cuadro resume las nociones positivas adquiridas hasta el día acerca de las emigraciones de los principales Distomoídeos.

CUADRO COMPARATIVO DE LOS DÍSTOMOÍDEOS PARÁSITOS DEL HOMBRE.

Nombre de los Vermes.	Distribución geográfica.	Lugar de habitación.	Dimensiones de Verme en milímetros.		Dimensiones del huevo en milésimas de milímetro.	
			Longitud.	Anchura.	Longitud.	Anchura.
Distoma hepaticum Retzius.	Cosmopolita.	Hígado.	15-33	4-13, 5	130-140	70-90
D. lanceolatum Mehlis.	Cosmopolita.	Hígado.	8-10	2, 2	40-45	30
D. conus Crepliss (=*D. conjunctum* Cobbold).	Cosmopolita.	Hígado.	9, 5-12	2, 5	34	21
D. sinense Cobbold (=*D. japonicum* R. Bl.).	China, Japón.	Hígado.	8-20	3, 5-4	20-36	15-20
D. Buski Lankester (=*D. Rathouisi* Poirier?).	India, China.	Intestino delgado.	40-70	17-20	125-150	85
D. heterophyes von Siebold.	Egipto.	Intestino delgado.	1-1, 5	0,5-0,7	16	15
D. Westermanni Kerbert (=*D. Ringeri* Cobbold).	China, Japón.	Pulmón.	8-10, 6	5-7, 6	80-100	50
Omphistoma hominis Lewis y MacConnell.	India.	Intestino grueso.	5-8	3-4	150	72

CUADRO QUE RESUME LAS EMIGRACIONES DE LOS PRINCIPALES DISTOMOIDEOS.

Estado larval.	Huésped intermediario.	Estado adulto.	Huésped definitivo.
Cercaria cystophora Wagener.	*Planorbis marginatus*, higado.	*Distoma lanceolatum* Mehlis.	Hombre, Carnero (hígado).
C. echinatoides de Filippi.	*Paludina vivipara*, higado.	*D. echinatum* Zeder.	*Anas boschas* (intestino).
C. spinifera de la Valette.	*Planorbis corneus*, higado.	*D. echinatum* Zeder.	*Anas boschas* (intestino).
C. macrocerca de Fil.	*Cyclas*, *Pisidium*, bránquias.	*D. cygnoides* Zeder.	Rana, Sapo (vejiga).
C. nodulosa von Linstow.	*Bythinia tentaculata*, higado.	*D. nodulosum* Zeder.	*Perca* (intestino).
C. ornata de la Val.	*Planorbis corneus*, higado.	*D. clavigerum* Rudolphi.	Rana, Sapo (intestino).
Cercariaeum ovatum Diesing.	*Paludina vivipara*, higado.	*D. luteum* Wagener.	Sollo (intestino).
Leucochloridium paradoxum Carus.	*Succinea amphibia*, palpos.	*D. macrostoma*.	*Apternus tridactylus* (intestino).
Histrionella ephemera Nitzsch.	*Planorbis corneus*, higado.	*Monostoma flavum* Mehlis.	*Anas fuliginosa* (esófago).
Bucephalus polymorphus von Baer.	*Unio*, *Anodonta*.	*Gasterostoma fimbriatum* von Siebold.	*Perca* (intestino).

BILHARZIA HÆMATOBIA Bilharz, 1852.

Este temible parásito pertenece también al grupo de los Tremátodos, pero se distingue de todos los Distomoídeos por la mayor parte de sus caracteres ana-

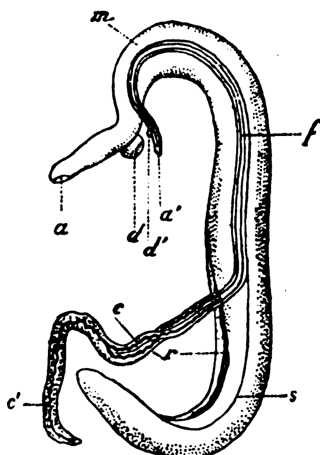


Fig. 36.—Dos individuos de *Bilharzia hæmatobia* en vía de acoplamiento. El macho, *m*, contiene en su ranura ventral ó canal ginecóforo, *r*, una hembra, *f*, cuyas dos extremidades están en libertad y colgantes.—*a*, ventosa bucal del macho; *a'*, ventosa bucal de la hembra; *c*, ramas intestinales; *c'*, conducto ciego único que procede de su reunión en la parte posterior; *d*, ventosa ventral del macho; *d'*, ventosa ventral de la hembra; *f*, cuerpo de la hembra; *m*, cuerpo del macho; *r*, canal ginecóforo; *s*, fondo del canal.

tómicos y embriológicos. Al paso que los tipos precedentes eran hermafroditas, éste tiene los sexos separados; se distinguen, pues, un macho (Fig. 36, *m*) y una hembra, *f*; ésta última se halla con mucha frecuencia contenida en gran parte en un profundo *canal ginecóforo*, que el

macho presenta á lo largo de su superficie ventral, y que resulta de que el cuerpo del macho se ha arrollado sobre sí mismo.

La Bilharcia vive exclusivamente en la sangre; se la encuentra en la vena porta y en sus ramas, tanto originales como terminales, así como también en las venas de la pequeña pelvis. Por sí mismo el parásito es totalmente inofensivo, pero no sucede lo, mismo desgraciadamente con sus huevos. Éstos (Fig. 37) de forma elíptica y desprovistos de valvulilla, están rodeados de una cáscara quitinosa espesa y resistente,



Fig. 37.—*Huevo de Bilharzia hæmatobia.*

armada en uno de sus polos de una punta muy afilada; miden 160 μ por 60 μ; el mismo rostelo tiene 25 μ de largo por término medio. Los huevos puestos en el interior de los vasos sanguíneos se acumulan en los capilares, que no pueden atravesar á causa de su excesivo diámetro. Gracias á su rostelo polar, perforan estos vasos y penetran íntimamente en los tejidos, que dilaceran é irritan hasta el punto de causar muy graves lesiones. Cuando éstas se manifiestan del lado de la vejiga, se producen de ordinario hemorragias vesicales ligeras que tiñen más ó menos fuertemente la

orina, de donde viene el nombre de *hematuria de Egipto*, con que se conoce generalmente esta afección. Pero los riñones, la uretra y la vejiga pueden estar completamente sanos, hallándose otros órganos profundamente lesionados; las lesiones causadas por el paso de los huevos á través de los tejidos pueden observarse en el intestino grueso, en la próstata, vesículas seminales, hígado y hasta en los riñones y el pulmón.* La hematuria no es pues el principal signo de la enfermedad causada por el huevo de la Bilharzia; por eso nos hemos propuesto designar ésta con el nombre de *bilharziosis*, que tiene la cuádruple ventaja de no prejuzgar ni el síntoma dominante ni la distribución geográfica † de la enfermedad, de recordar con precisión á qué parásito es debida, y de estar formada con arreglo al modelo de muchos nombres análogos, adoptados actualmente de una manera corriente. El diagnóstico de la afección se hará pues examinando microscopicamente la orina ó las materias fecales; en ellas se encontrarán huevos que son fáciles de reconocer por su forma particular; sólo este examen permite distinguir, una de otra, dos hematurias parasitarias que pueden coexistir en el mismo país, causada una por la Bilharcia y otra por la Filaria de la sangre.

El embrión no se desarrolla sino después de la puesta del huevo, pero su evolución comienza frecuente-

* Véase á este propósito el interesante trabajo de Mohamed Chaker, *Etude sur l'hématurie d'Egypte causée par la Bilharzia hæmatobia.* Thèse de Paris, 1890.

† En efecto la *bilharciosa* existe en toda la costa oriental del África, y especialmente en el cabo de Buena Esperanza; según Eyles se encuentra también en la costa de oro entre los naturales de Axim (C. H. Eyles, *Bilharzia hæmatobium* (sic) *in West Africa.* The Lancet, II, p. 659, 1887).

mente antes que el huevo sea expulsado del organismo. Pasando atentamente revista á cierto número de huevos eliminados con la orina, se encuentran siempre algunos en cuyo interior está el embrión enteramente formado. Este embrión es semejante al de las Dístomas y tiene el aspecto de un Infusorio holótrico. Se conocen bastante bien las primeras etapas de su evolución, la manera como sale á luz y como se conduce después en el agua, pero las numerosas tentativas que se han hecho hasta el día á fin de determinar sus emigraciones han resultado inútiles.

Está evidentemente destinado á moverse en el agua y á pasar al cuerpo de un huésped intermediario que es un animal acuático, probablemente un Molusco. Los Cercarios, una vez en libertad, nadan, sin duda, en el agua, con la que son introducidos en el tubo ó canal digestivo del Hombre. Por lo menos está fuera de duda que el parásito está en relación directa con el agua potable; se le observa sobre todo en las aldeas y entre los individuos de la clase pobre, que no hacen nunca uso de agua filtrada; Belelli acusa formalmente al agua del Nilo de transmitirlo y observa que es casi desconocido en las ciudades de Egipto que reciben agua filtrada.

Allen * admite sin embargo que la infección puede verificarse de cualquiera otra manera. En King-William's-Town, dice, los hombres y sobre todo los jóvenes se encuentran infestados, mientras que las mujeres y las niñas permanecen indemnes. Procura explicar este hecho porque los hombres se bañan en el río, mientras que las mujeres se abstienen de ello.

*T. F. Allen, *Parasitic hæmaturia or bloody urine.* The Practitioner, p. 310, 1888.

Además afirma que la infestación tiene más probabilidades de producirse en los niños, porque no sabiendo nadar permanecen en la orilla, donde el agua corre lentamente y sobre un fondo fangoso, mientras que los hombres, por el contrario, se lanzan más lejos y nadan en agua corriente y clara, teniendo más probabilidad de librarse del contagio. El embrión de la Bilharcia penetraría, según él, por el canal de la uretra. Allen saca, en apoyo de su manera de ver, una nueva prueba, del hecho de que en la ciudad se hace uso de agua filtrada ó tomada en un punto del río muy inmediato al manantial, de suerte que esté todavía pura.

Esta singular teoría no tiene necesidad de ser largamente combatida. Para demostrar su inexactitud nos bastará hacer observar que no se funda en ninguna observación seria; que no hace mas que repetir una opinión antigua, largo tiempo admitida sin discusión para la *Filaria medinensis*, pero cuya falsedad ha sido finalmente demostrada por las investigaciones de Fedtchenko; que la mayor frecuencia del helminto entre los muchachos resulta del hecho general de que los individuos jóvenes de cada especie animal ofrecen á la invasión de los parásitos el mínimum de resistencia; y por último que la mayor frecuencia de los helmintos en los individuos varones depende de que éstos, aun habitando en una ciudad alimentada por aguas filtradas, están más expuestos que las mujeres á la contaminación, porque los paseos, la caza ó los trabajos del campo, los llevan frecuentemente fuera de la población.

Es pues cierto que la *Bilharzia* es transmitida al Hombre por las aguas potables no filtradas ó no hervidas. En todos los paises en que la *bilharciosa* es endémica se correrán los mayores peligros absorbiendo

sin precaución el agua de los ríos, lagos ó cisternas. Por esta razón los soldados italianos del cuerpo de ocupación, en la región de Massauah, se han visto atacados de esta enfermedad en muy notable proporción.*

Hemos indicado ya cuán vasta es el área de distribución ocupada en África por la *Bilharzia hæmatobia.* Es muy verosímil que este mismo helminto se encuentre igualmente en Asia, especialmente en la Meca y en el litoral del Mar Rojo. Se ha señalado su presencia en Bayrouth, pero tal vez los dos enfermos de que se trataba habían estado en Egipto; esto nos parece tanto más probable cuanto que los médicos de la Facultad francesa de esta ciudad no han confirmado esta observación.

El parásito no ha sido aún visto en Europa ni en América † ni en Oceanía; pero esto no quiere decir que no pueda extenderse hasta las Indias, en Asia, é invadir un día ú otro el Sur de Europa. Sonsino ha dado á conocer, en el Buey y el Carnero de Egipto, la existencia de una especie algo diferente de la del Hombre, la cual ha descrito con el nombre de *Bilharzia bovis.* Ahora bien esta especie ha sido observada por Bomford ‡ entre los Ganados de Bengala, y después por Grassi y

* P. Sonsino, *Le condizioni di Massaua per rispetto alla vita e diffusione di certi elminti perniciosi all' Uomo, in paragone a quelle dei paesi dove questi elminti sono già conosciuti.* Processo verbale della Società toscana di sc. nat., 1 luglio 1888.

Véase también: Bulletin médical, II, p. 918, 1888.

† El *Bulletin médical,* IV, p. 281, 1890, anuncia que Samprum ha observado la Bilharcia en Cuba, en casos de hematoquiluria. Evidentemente ha querido referirse á la Filaria de la sangre.

‡ Bomford, *Note on eggs of Distoma (Bilharzia) hæmatobium found in transport cattle.* Scientific memoirs of medical officers' army of India, part II., 1886. Calcutta, 1887.

Rovelli * en los Carneros nacidos y criados en Sicilia, en los alrededores de Catana. Hay pues motivo para temer que las tropas italianas al volver á sus hogares lleven consigo la *Bilharzia* á Sicilia, donde hallaría sin duda condiciones favorables para su desarrollo y desde donde podría tal vez irse extendiendo cada vez más en un extenso radio.

* B. Grassi y G. Rovelli, *La Bilharzia in Sicilia.* Rendiconti dell' Accad. dei Lincei, (4), IV, 17 giugno 1888.

CAPÍTULO V.

NEMÁTODOS.

El grupo de los Nemátodos comprende un número considerable de formas animales que presentan las formas de vida más variadas; muchos son parásitos de animales, y las condiciones de su existencia y de su propagación son tan diversas que no se podría intentar dar su descripción general, sin salir del cuadro de este trabajo.

ASCARIS LUMBRICOIDES Linné, 1758.

Este Verme, conocido generalmente con el nombre de Lombriz, vive como parásito en el intestino delgado del Hombre. Los huevos puestos por la hembra son



Fig. 38.—Huevo de *Ascaris lumbricoides*, agrandado 400 veces.

expulsados con las materias fecales; son ovoídeos (Fig. 12, *a*; Fig. 38), blancos antes de la puesta, teñidos en seguida de obscuro y provistos de dos envolturas distintas. La interior es lisa y resistente; la exterior está con-

stituida por una capa transparente y apezonada que da á la cáscara un aspecto muriforme.* Esta envoltura externa se destruye bastante fácilmente; más adelante investigaremos si esto no ejerce alguna influencia en la marcha del desarrollo. Considerásela generalmente como de naturaleza albuminosa, pero su gran resistencia al jugo gástrico y á los demás líquidos digestivos demuestra la inexactitud de esta asimilación.

El huevo mide 75 μ por 58 μ. El desarrollo se realiza en el agua, lo mismo que en la tierra ó en una atmósfera húmeda; no tiene lugar en seco, ó en una atmósfera desprovista de oxígeno; por otra parte no empieza sino bastante largo tiempo después de la puesta. Durante el verano, la evolución se verifica con bastante rapidez; pero en otoño y en invierno el huevo puede permanecer cinco, seis y ocho meses sin presentar la menor huella de segmentación. Conservados más de un año en materias fecales desecadas, los huevos no presentan ningún indicio de desarrollo; pero si se les pone nuevamente en un medio húmedo, se echa de ver que no todos han perdido la facultad de desarrollarse; la helada ó una temperatura de 42° C. los deja perfectamente intactos. Ofrecen pues una notable resistencia á las causas de destrucción.

El embrión es cilíndrico, de 250 μ á 300 μ de largo. Su extremidad anterior es obtusa; la posterior se halla bruscamente adelgazada y aguzada. Durante la primera época de su formación y cuando la temperatura es elevada, se le ve moverse en el interior del huevo; puede

* D. Urquiza (*Sobre entozoarios.* Tesis de Buenos Aires, 1884) ha dado fotografías microscópicas del huevo del *Ascáride* y de algunos otros helmintos, así como también noticias interesantes acerca de los entozoarios más comunes en la República Argentina.

permanecer vivo por lo menos cinco años en este último; sus movimientos se hacen lentos y se manifiestan con mayores intérvalos; de esta suerte cae en estado de vida latente. El embrión no sale espontanéamente del huevo, mientras éste permanece en la tierra húmeda ó el agua, pero si el huevo es introducido en el canal digestivo del Hombre, por ejemplo con el agua potable, rompe su cáscara ablandada por los jugos digestivos, y entonces se encuentra en un medio favorable á su desarrollo ulterior.

En efecto está bien demostrado, con pruebas de diversos órdenes, que el desarrollo del Ascáride es directo, sin emigración, y que el helminto llega al estado adulto y sexuado en el individuo mismo que había tragado el huevo de que procede. Nosotros hemos consignado en otro lugar * una serie de observaciones que demuestran que se pueden encontrar en el intestino del Hombre Ascárides de todas edades, desde un período cercano á su nacimiento hasta el estado adulto. El profesor Al. Laboulbène ha hecho notar también † que los casos de este género certifican en favor de la evolución directa. La realidad de esto resulta, por otra parte, evidente, si se compara con estas observaciones el resultado de los experimentos de infestación intentados por diversos helmintólogos.

Davaine hizo tragar á una Rata huevos de Ascárides embrionados y conservados en el agua desde hacía cinco años. Al cabo de doce horas el animal fué sacrificado: en el estómago y en la primera porción del intestino

* *Traité de zoologie médicale*, I, p. 567.

† Al. Laboulbène, *Sur l'état larvaire des helminthes nématodes parasites du genre Ascaride*. Comptes-rendus de l'Acad. des sciences, CIV, p. 1593, 1887.

delgado se hallaron todos los huevos intactos; en la segunda porción y, sobre todo, al final del intestino delgado se hallaron embriones salidos de los huevos, y muy vivos juntamente con otros en vías de salir á luz; la cáscara no estaba aún disuelta, pero los embriones salían por una perforación que habían hecho en uno de los polos.

Leuckart intentó sin éxito la infestación directa del Hombre por medio de huevos embrionados, deduciendo de aquí, contra la opinión sentada por Davaine, que el Ascáride realizaba emigraciones y debía pasar por un huésped intermediario. Había operado con huevos conservados en el agua ó en el fango y que sin duda habían perdido, en su mayor parte, la membrana externa.

Grassi y después Calandruccio y Lutz obtuvieron un resultado muy distinto. El primero de estos observadores ingirió el 20 de julio de 1879 un centenar de huevos embrionados, que poseían aún su envoltura externa * y que habían sido conservados desde hacía nueve meses en materias fecales mantenidas húmedas; á partir del 21 de agosto siguiente observó la presencia constante de huevos de Ascárides en sus deyecciones.

Calandruccio fué menos afortunado; intentó en vano infestarse ingiriendo nueve veces distintas huevos que contenían embriones muy vivos y llegados al término de su desarrollo. En cambio la infestación se realizó con la mayor facilidad en un muchacho de siete años al que había hecho tragar en una píldora, el 20 de septiembre de 1886, cerca de 500 huevos embrionados, provistos todavía de su envoltura externa. Excusado

* B. Grassi, *Weiteres zur Frage der Ascarisentwickelung*. Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, III, p. 748, 1888.

es decir que adoptó las precauciones más rigurosas á fin de impedir una contaminación extraña, ya antes ya después del experimento. Á fines de octubre las deposiciones del joven paciente contenían ya gran número de huevos puestos evidentemente por Vermes procedentes de los embriones ingeridos. El 10 de enero de 1887 se administraron 4 centigramos de santonina, tratamiento que provocó la expulsión de 153 Ascárides. Algunos días más tarde las deyecciones contenían aún huevos en gran número; quedaban pues aún otros Vermes en el intestino; el 20 de enero de 1889 éstos no habían sido aún expulsados y sus huevos continuaban apareciendo en las materias fecales.

Lutz * ha obtenido un resultado igualmente afirmativo en São Paulo (Brasil). Desde el 4 al 27 de enero de 1888 una persona de 32 años de edad tragó en ocho ocasiones distintas huevos rodeados de su cáscara muriforme; cada dosis se componía próximamente de 12 huevos. El 1º de febrero se administró la santonina; las deyecciones subsiguientes expulsaron 35 Vermes de 5 μ 5 á 13 μ de largo, en su mayor parte vivos y muy ágiles. La diversidad de tallas está en perfecta relación con la ingestión reiterada de los huevos.

El huevo maduro, introducido en el intestino da allí salida á embriones, que en el espacio de una á tres semanas adquieren la dimensión de 5 μ 5 á 13 μ. De este experimento y de los precedentes se puede además

* Ad. Lutz, *Zur Frage der Invasion von Tænia elliptica und Ascaris lumbricoides.* Centralblatt für Bakteriol. und Pasitenkunde, II, p. 713, 1887.—Id., *Weiteres zur Frage der Uebertragung des menschlichen Spulwurmes.* Ibidem, III, p. 265 y 297, 1888.—Id., *Zur Frage der Uebertragung des menschlichen Spulwurmes.* Ibidem, p. 425.—Id., *Klinisches über Parasiten des Menschen und der Hausthiere.* Ibidem, p. 553, 585 y 617.

deducir que el embrión no permanece vivo sino en los huevos que han conservado intacta su membrana externa; no creemos, sin embargo, que esta condición sea absoluta y que todo huevo desprovisto de envoltura muriforme, sea, por este solo hecho, incapaz de transmitir el parásito.

El desarrollo directo por medio de huevos embrionados introducidos en el canal digestivo por medio de las aguas potables es verdaderamente la regla para todos los Nemátodos de la familia de los Ascárides. Hering ha demostrado mediante una larga



Fig. 39.—Huevo de *Ascaris mystax*, agrandado 400 veces.

serie de observaciones que el *Ascaris mystax* se encuentra, en todas las edades, en el intestino y hasta en el estómago del Perro y del Gato; Leuckart ha podido constar el mismo hecho en cuanto á este último animal. Por otra parte Unterberger ha puesto fuera de duda la ausencia de huésped intermediario por lo que respecta al *Heterakis maculata* del Pichón.

El *Ascaris mystax* se observa á veces en el Hombre; importa, pues, saber reconocer sus huevos. Éstos (Fig. 39), por otra parte, tienen una estructura característica;

son generalmente esféricos y tienen de 68 á 72 μ de ancho; su envoltura albuminosa externa está adornada en su superficie de una elegante red, cuyas mallas, de 3 á 4 μ de anchas, circunscriben pequeñas depresiones. Lo mismo que en el *A. lumbricoides* esta capa de albúmina puede ser destruída durante el curso de su desarrollo, y hasta en ocasiones al cabo de algunos días. El huevo se abre ya en el estómago, donde por otra parte se ven con bastante frecuencia Vermes adultos.

OXYURIS VERMICULARIS Bremser, 1819.

Por mas que el Oxiuro sea generalmente considerado como un parásito del intestino grueso, esta opinión no es en manera alguna exacta. Este Verme se desarrolla, vive y se acopla en el intestino delgado; después de la cópula, los machos mueren y son evacuados, pero las hembras pasan al ciego, donde continúan viviendo, hasta que sus huevos están enteramente formados. Entonces descienden hasta el recto en el que efectúan, en parte, la puesta; tienden igualmente á abandonar el intestino, como lo demuestran el prurito insoportable que se siente en el ano, y la presencia de gran número de Vermes en las deyecciones.

Las hembras que descienden de este modo hasta el ano ponen en el mucus anal y en el tegumento húmedo de la región vecina un gran número de huevos que podrán ser llevados á la boca por los dedos ó por la ropa blanca y serán de esta suerte causa de una autoinfestación continua. La propagación y la diseminación del parásito se ven, por otra parte, aseguradas por la diseminación de las materias fecales que contienen huevos

libres y hembras ovígeras; los huevos se esparcen por todas partes y pueden ser llevados por el agua al tubo digestivo del Hombre.

El huevo (Fig. 12, *b*, *c*) mide de 50 á 52 μ por 16 á 24 μ; visto por la parte superior es de forma oval; visto de perfil, presenta la faz ventral aplastada, y la dorsal abombada, por ser la extremidad cefálica mas adelgazada que la otra. La cáscara es lisa, resistente y está formada por tres capas superpuestas y rodeadas además de una delgada envoltura albuminosa, gracias á la cual los huevos quedan adheridos entre sí después de la puesta. El ácido acético separa los coriones del resto de la cáscara, salvo en un punto de 7 μ de ancho, situado en la faz dorsal del huevo, detrás del polo cefálico; á este nivel la capa media de la cáscara falta, de modo que las dos capas externa é interna se ponen en contacto. Esta particularidad de estructura tiene gran importancia: bajo la influencia de los ácidos, del jugo gástrico ó de la putrefacción, el punto en cuestión se desprende á la menor presión dejando detrás un estrecho orificio por donde podrá escaparse el embrión.

El huevo está aún en el útero cuando recorre las primeras fases de su desarrollo. En el momento de la puesta, contiene ya un embrión giriniforme. Si las condiciones exteriores son favorables, el embrión termina rapidamente su evolución; se adelgaza y llega á tener 140 μ de largo por 10 μ de ancho, cuando más; se repliega en el huevo, se agita durante algún tiempo y después permanece inmóvil, durante semanas y meses en vida latente, hasta ser introducido en el estómago del Hombre. El embrión no resiste á la acción prolongada del agua; ésta sólo sirve de vehículo al huevo secundariamente.

TRICHOCEPHALUS HOMINIS Schrank, 1788.

El Tricocéfalo vive en el ciego del Hombre y á veces también en el apéndice ileocecal y en las primeras porciones del colón. Su huevo (Fig. 12, *d*) tiene de 50 á 56 μ de largo por 24 μ de ancho ; es algo obscuro, oval, liso, en forma de perla ; en efecto se halla limitado por dos envolturas concéntricas, una interna delgada y continua y otra externa espesa y que tiene en cada polo un ancho orificio que cierra una especie de tapón mucoso. Esta estructura característica permite econocer fácilmente el huevo del Tricocéfalo, cuando se practica el examen microscópico de las materias fecales.

Este parásito se propaga á la manera del Ascáride ; se transmite directamente sin pasar por un huésped intermediario. El huevo expulsado con las deyecciones, no se desarrolla sino lentamente, al cabo de varios meses, de año y medio y hasta más tarde aún. El desarrollo se verifica en el agua, pero el huevo está dotado de una gran fuerza de resistencia á las influencias exteriores ; puede permanecer expuesto á la sequedad y á la helada sin morir ; la evolución se hace sencillamente y con la mayor lentitud. Cuando se ha terminado, el embrión puede permanecer en vida latente durante varios años, en el interior del huevo.

Si el huevo embrionado es introducido en el tubo digestivo por el agua potable, el embrión perfora su cáscara. Davaine ha demostrado que la salida á luz del embrión se verifica en el estómago ; es, pues, probable que antes de llegar al ciego el joven Verme, permanezca algún tiempo en el intestino delgado, opinión que se halla corroborada por cierto número de observa-

ciones precisas. Bastan cuatro ó cinco semanas para permitir al animal llegar á la madurez sexual.

Los experimentos de Calandruccio * han probado el desarrollo directo del *Trichocephalus hominis*. Una demostración semejante ha dado Leuckart en cuanto al *Tr. affinis* del Carnero y al *Tr. crenatus* del Cerdo, y lo mismo ha hecho Railliet con respecto al *Tr. depressiusculus* del Perro.

EUSTRONGYLUS GIGAS Diesing, 1851.

Este Verme vive en las vías urinarias de cierto número de Mamíferos ictiófagos, tales como la Foca, la Nutria, el Zorrillo de Indias; se le encuentra también en el Perro, el Lobo, el Zorro y á veces hasta en el Hombre. La hembra, que puede llegar á un metro de longitud, pone huevos que son arrastrados al exterior con la orina en el momento de orinar.

La estructura del huevo es característica (Fig. 40). De forma elipsoidal, algo adelgazado hacia los polos, tiene de 64 á 68 μ de largo y de 42 á 44 μ de ancho. La cáscara es quitinosa, espesa, y sin embargo muy frágil; de color obscuro, salvo en las dos extremidades, en las cuales es incolora; es más espesa en los polos, aunque es el punto de menor resistencia. Su superficie se halla acribillada de pequeños orificios de 2 á 5 μ de ancho, que resaltan, por su color claro, sobre el tinte obscuro de la cáscara, y cada uno de los cuales se halla rodeado de un ancho borde; unos son circulares, otros más ó menos irregulares. Estos orificios no son otra cosa que la embocadura de pequeños canales en forma

* B. Grassi, *Trichocephalus und Ascarisentwicklung*. Centralblatt für Bakteriol. und Parasitenkunde, I, p. 131, 1887.

30

de embudo que atraviesan la cáscara de parte á parte, sin que por eso pongan el *vitellus* en comunicación con el exterior; en efecto éste se halla envuelto por una membrana vitelina que se aplica íntimamente á la cáscara. Esta notable estructura se observa en la superficie entera del huevo, salvo en los polos que presentan siempre un aspecto homogéneo.

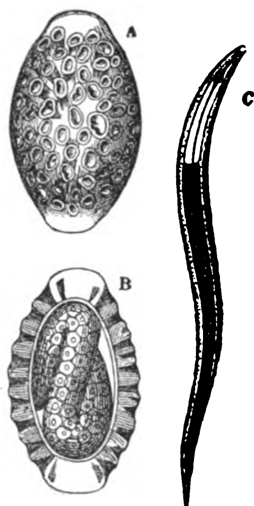


Fig. 40.—Huevo y embrión de *Eustrongylus gigas* según Balbiani.

En el momento de la puesta, el huevo no contiene aún mas que dos células de segmentación. Si entonces llega al agua ó á un terreno húmedo, pasan, en invierno, cinco ó seis meses antes de que el desarrollo del embrión se termine; en verano la evolución es mucho más rápida. El embrión puede permanecer por lo menos cinco años en el huevo sin perecer. Si se consigue hacerle salir á

luz artificialmente y se le introduce en agua pura, se altera rapidamente y sólo vive bien en líquidos albuminosos; este hecho demuestra que el agua no es el medio que conviene al joven Verme al nacer. Por otra parte el embrión no resiste á una prolongada sequía como lo explica la estructura de su cáscara. Esta gran fragilidad explica la extremada rareza del parásito, aunque produce inmenso número de huevos.

Ignóranse totalmente las emigraciones y metamórfosis de este Verme. Balbiani ha intentado, sin éxito, infestar Perros, Conejos y diversos Peces, haciéndoles tragar huevos embrionados. Por lo menos queda demostrado de un modo cierto que el huevo debe permanecer en el agua, donde sin duda es tragado por algún Pez, en cuyo intestino sale á luz. El embrión, cuya boca está armada de un dientecillo perforante atraviesa entonces la pared intestinal para irse á lo interior de los órganos, y sólo podrá llegar á su huésped definitivo por consecuencia de una emigración pasiva.

UNCINARIA DUODENALIS Dubini, 1843.

Sinónimo: *Ankylostoma duodenale* Dubini, 1843.

La Uncinaria ó Ankilóstoma* habita la primera mitad del intestino delgado. Es un Verme de pequeñas dimensiones y de cuerpo casi cilíndrico. El macho tiene de 6 á 11 mm. 5 de largo y de 0 mm. 4 á 0 mm. 5 de ancho en su parte media; se termina hacia atrás en una bolsa copu-

* El género *Ankylostoma* Dubini, 1843, es muy seguramente sinónimo del género *Uncinaria* Frölich, 1789. El único nombre que puede convenir al Verme de que vamos á tratar es, pues, el que aquí le damos.

ladora dividida (Fig. 41) en cuatro lóbulos desiguales por medio de aberturas ó escotes poco profundos, y recorrida por once costillas irradiadas de naturaleza muscular. La hembra tiene de 7 á 15 mm. de largo, y á veces hasta 18 mm.; su parte posterior termina en una punta cónica. La parte inicial del tubo digestivo está constituída de la misma manera en los dos sexos; se halla formada por una vasta cápsula bucal compuesta de varias piezas quitinosas y que se abre hacia afuera mediante un ancho orificio abierto á bisel á expensas de

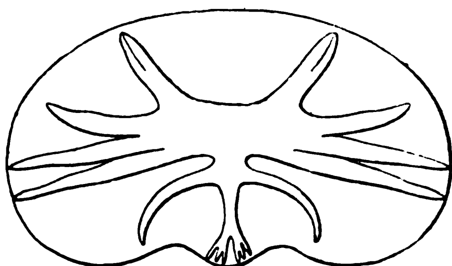


Fig. 41.—Borsa caudal de *Uncinaria duodenalis* semiesquemática y agrandada 50 veces.

la pared dorsal (Fig. 42). En la cara interna de la pared ventral se hallan insertos cuatro dientes, dispuestos simétricamente á ambos lados de la línea media, *a*, *b*; tienen la forma de ganchos con la punta doblada ó encorvada hacia atrás, y son armas temibles, con ayuda de las cuales el animal perfora la mucosa intestinal, desgarra los vasos capilares, y produce una ligera hemorragia. Si se encuentran en el intestino centenares y aun millares de Vermes no será despreciable la pérdida de sangre; y como en cierta manera ésta es continua, el organismo acaba por

debilitarse y se establece una anemia profunda y á veces mortal, que conviene designar con el nombre de *uncinariosa* ó de *ankilostomasia*.

Los individuos cuyo intestino alberga este parásito rechazan constantemente con las deposiciones huevos que han sufrido ya las primeras fases de la segmenta-

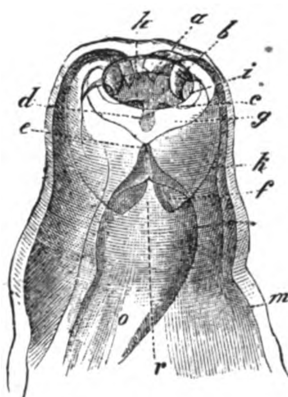


Fig. 42.—Extremidad anterior de una hembra de *Uncinaria duodenalis* vista por la cara dorsal: *a*, diente interno; *b*, diente externo; *c*, diente cónico del borde dorsal; *d*, escotadura del borde dorsal; *e*, ancha laminilla triangular que cubre la hendidura dorsal de la cápsula; *f*, límite de dicha hendidura dorsal; *g*, anillo que representa la mitad dorsal del aparato dental; *h*, delgada laminilla que cubre á medias los dos dientes internos; *i*, borde cutáneo; *k*, superficie externa de la cápsula; *m*, límite de la capa muscular; *o*, esófago; *r*, hendidura dorsal de la cápsula.

ción. El huevo (Fig. 12, *e*), es generalmente elíptico y redondeado por sus extremos; su cáscara es delgada, lisa, transparente y bastante resistente; mide de 55 á 65 μ por 32 á 43 μ. Podría confundírsele con el huevo de la Oxiura, pero basta recordar la descripción de éste para notar las diferencias.

Los huevos expulsados con los excrementos continúan desarrollándose en los mismos ó en la tierra húmeda. Al cabo de 12 ó 15 horas de incubación, si la temperatura es favorable, se ven ya algunos embriones precoces que continúan viviendo en el fango; al cabo de un día y medio ó dos días, la mayor parte de los óvulos han dado á luz, pero esta operación se continúa hasta el cuarto día y más aún, porque la evolución no es igualmente rápida para todos los huevos.

El embrión que acaba de salir á luz tiene cuando más 0 mm. 20 de largo por 14 μ de ancho. Su cola es afilada en forma de lesna; su cabeza es trilobulada y su boca está constituída por un canal rectangular de 12 μ de largo por 1 μ de ancho, que va á parar á la faringe. Esta última es musculosa, de paredes espesas y ocupa dos quintas partes próximamente de la longitud del cuerpo; tiene la forma de una pesa de gimnasia, es decir que está constituída por dos dilataciones reunidas por una porción más estrecha; la dilatación anterior se alarga en forma de huso mientras que la posterior es esférica y contiene tres dientes quitinosos.

El intestino es únicamente celular; su anchura es de 8 μ próximamente; el ano está abierto en lo alto de una mamila lateral en la base de la cola.

Este embrión come mucho y crece pronto; se alimenta de detritus orgánicos. Al tercero día experimenta una primera muda, durante la cual pierde la punta de su cola. Al fin de la primera semana su crecimiento está terminado; tiene 56 μ de largo y 24 μ de ancho. Entonces muda por segunda vez; la bulba faríngea pierde su armadura dental, al mismo tiempo que su estructura musculosa se hace menos

aparente; el intestino es rectilíneo y marca el eje del cuerpo.

El animal ha pasado entonces al estado de larva. No toma más alimento y cesa de crecer. Permanece largo tiempo en este estado, semanas y hasta meses, viviendo en el agua fangosa ó en el lodo; el agua pura le hace perder sus movimientos y acaba por matarle; aun en el agua fangosa muere al cabo de un tiempo más ó menos largo, a menos de que sea conducido al tubo digestivo del Hombre, ya por el agua misma, ya por un objeto (pan, pipa, etc.) introducido en la boca después de haber estado en el lodo.

Llegada al intestino delgado la larva pasa al estado adulto en el espacio de algunas semanas; al cabo de 9 ó 10 días se verifica una primera muda, en el curso de la cual la cápsula bucal empieza á bosquejarse, pero sólo á la tercera muda se establecen definitivamente los caracteres de adulto.

La *Uncinaria* se desarrolla pues directamente. Nos es transmitida por el agua fangosa y este hecho explica por qué la anemia de que ella es causa se observa casi exclusivamente en individuos que trabajan la arcilla desleída en agua, ó que están habitualmente en contacto con aguas fangosas; tales son los obreros que trabajan en tejares, alfarerías, arrozales, minas y túneles. Para demostrar hasta que punto es temible este parásito, nos bastará recordar las víctimas causadas por él en las minas de hulla y la terrible epidemia que diezmó á los obreros empleados en abrir el túnel de San Gotardo.

Este mismo helminto se halla más esparcido en los paises cálidos de Europa. Es muy común en Egipto y sobre todo en América, en toda la zona intertropical, tanto en el continente como en las Antillas, y por todas

partes produce una anemia profunda designada con los nombres más diversos.*

Abunda en el Brasil hasta el punto de ser uno de los mayores peligros que se pueden correr allí; se señala además su presencia en el Perú, Guayana, Colombia, cuenca del alto Marañón, Bolivia y entre los indígenas de Sarayacu. No se la conoce aún en Chile ni en la República Argentina, pero Güiraldes hace observar con razón † que no tardará sin duda alguna en ser introducida en este último país por emigrantes procedentes del Brasil ó de Italia.

La anemia perniciosa de los Perros de trailla es causada por la *Uncinaria trigonocephala* Rudolphi, como lo han demostrado Mégnin, Trasbot y Railliet. Este parásito cuyo huevo ovoídeo mide de 74 á 81 μ de largo, y de 48 á 54 μ de ancho, obra de la misma manera que la *Uncinaria* del Hombre y se desarrolla de un modo análogo. Grassi y C. Parona lo han observado también en el Gato, en el que produce los mismos accidentes; lo han descrito como una especie nueva con el nombre de *Dochmius Balsamoi.*

Por último Railliet ha descubierto en el Perro, junto con la especie precedente, un nuevo helminto, el *U. stenocephala*, que parece desempeñar un papel tan activo por lo menos como su congénere en el desarrollo de la anemia de las traillas; el huevo es ovoídeo; tiene de 63 á 67 μ de largo y de 32 á 38 μ de ancho.

* Clorosis de Egipto, hipohemia intertropical, clorosis tropical; tuntún en Colombia; opilação y cançaço en el Brasil, etc.

† Ad. Güiraldes, *Ankylostomiasis.* Tesis de Buenos-Aires, 1889.

FILARIA MEDINENSIS Linné, 1767.

Es una creencia muy antigua que la Filaria de Medina ó Dracúnculo es transmitida por el agua. Las investigaciones de Fedtchenko han confirmado esta creencia, demostrando al mismo tiempo que la propagación del parásito se verifica muy de otro modo que como se había creído hasta entonces.

Cuando el Dracúnculo manifiesta su presencia y se muestra bajo la piel ha llegado al término de su evolucion : es constantemente una hembra, cuyo cuerpo, que tiene á veces de 0 m. 50 á 0 m. 80 de largo y aun más, por 0 mm. 7 á 1 mm. 5 de ancho, está enteramente lleno por un tubo interior distendido por un líquido lactescente en cuyo seno nadan y se agitan miriadas de embriones. El abceso que se forma en torno del parásito no tiene otro objeto que ayudar á su eliminación. Sea que se la atraiga fuera por medio de un procedimiento cualquiera, sea que se deje obrar á las solas fuerzas de la naturaleza, el Verme es expulsado intacto ó por fragmentos.

En ambos casos los embriones acaban por esparcirse por el suelo : pueden vivir largo tiempo en la tierra húmeda, pero caen en estado de muerte aparente cuando son sometidos á la desecación ; si entonces se los humedece, vuelven á la vida. Gracias á esta notable resistencia, pueden acomodarse á las condiciones más diversas, entre tanto que una lluvia torrencial los arrastra á los arroyos ; muchos mueren sin duda antes de encontrar estas circunstancias favorables, pero el número prodigioso de embriones nacidos de una sola Filaria está precisamente en relación con las múltiples probabilidades de destrucción que pueden encontrar.

El embrión (fig. 43 y 44) tiene de 0 mm. 50 á 0 mm. 65 de largo y de 15 á 20 μ de ancho. Su extremidad anterior está muy ligeramente afilada y se termina en una superficie plana, cuyo medio está ocupado por la

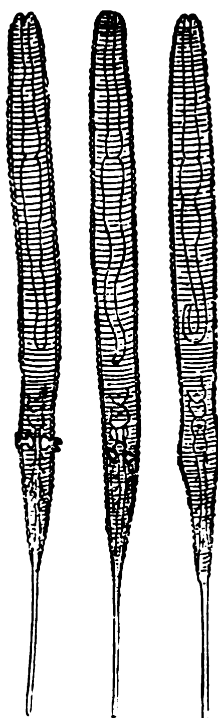


Fig. 43.—Embriones de *Filaria medinensis* aumentados 500 veces, según Bastián.

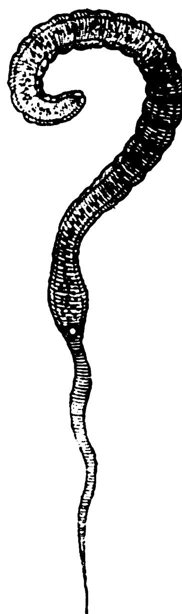


Fig. 44.—Embrión de *Filaria medinensis* aumentado 500 veces, según Cobbold.

boca. La primera mitad del cuerpo es cilíndrica; las dos quintas partes posteriores están ocupadas por una cola muy afilada, recta y rígida. La cutícula es muy

espesa y está marcada por estrías transversales; éstas distan entre sí unos 14 μ sobre el cuerpo, se hallan más próximas é indistintas en la cola y completamente borradas en su extremidad. El tubo digestivo, en el que se distinguen claramente un esófago y un intestino, termina en un ano transversal, abierto á raíz de la cola. Un poco detrás y á cada lado hay una papila caudal, contenida en una depresión más ó menos profunda de la cutícula.

Constituído de esta suerte, el embrión vuelve á la vida activa tan pronto como se halla sumergido en el agua. Nadando encuentra pequeños Crustáceos copépodos del género *Cyclops* y se fija en sus patas; en seguida perfora la concha por el intersticio de los segmentos del abdomen, y llega así á la cavidad del cuerpo; allí debe realizar su primera metamórfosis y pasar al estado larvario. Permanece unos doce días sin modificarse muy sensiblemente, después muda y se presenta bajo otro aspecto nuevo.

La cola es corta y mide apenas la novena parte del cuerpo; se termina por una superficie obtusa sobre la que se yerguen tres puntas; la cutícula es lisa; el tubo digestivo se halla netamente dividido en tres partes; el ano se abre en la base de la cola. El animal no tiene mas que 0 mm. 5 de longitud, pero hacia la cuarta semana después de la muda, mide ya más de un milímetro.

La larva permanece más ó menos tiempo en tal estado. Las condiciones favorables á su desarrollo ulterior se hallan realizadas cuando el Cíclope que la alberga llega con el agua al intestino del Hombre ó de un animal capaz de contraer la *draconciacia* ó *dracontiasis*.*

* Galieno daba el nombre de δραχοντιασις á la enfermedad causada por la Filaria de Medina.

Ahora bien ésta es una condición fácilmente realizable en paises donde el agua escasea, y donde las bestias y las gentes se ven con frecuencia reducidas á beber aguas estancadas, en las que pululan los Cíclopes. Éstos pasan inapercibidos á causa de su exiguo tamaño; son matados y digeridos por los jugos, mientras que las Filarias quedan en libertad.

Ignórase lo que es de las larvas después. Sin embargo es probable que se transformen, lleguen á madurez sexual y se acoplen en el intestino. El macho muere entonces y es evacuado, pero la hembra perfora la pared intestinal y va á alojarse en los órganos. Al cabo de algún tiempo que varía de ocho meses á dos años, dicha hembra llega al término de su crecimiento apareciendo bajo la piel.

La distribución geográfica del Dracúnculo en el mundo antiguo es bastante conocida para que haya que insistir en este punto. En tiempo de la trata de negros se le observaba con bastante frecuencia en Santo Domingo, Curaçao, la Guayana y en el Brasil; en cambio ha sido siempre desconocida en paises como Chile, Bolivia y Perú que tienen sensiblemente el mismo clima que muchas provincias brasileñas, pero que no han tenido nunca esclavos africanos. Desde la abolición de la trata el parásito ha desaparecido de Santo Domingo; parece haberse propagado á Curaçao así como á Demerary y Surinam en la Guayana. Se ha mantenido igualmente en ciertas localidades brasileñas, especialmente en los alrededores de Feira de Santa Anna, provincia de Bahía. Es posible que se extienda más con el tiempo y gracias á la mayor facilidad de comunicaciones; sin embargo los pequeños Copépodos que pueblan las aguas de la América del sur

son aún demasiado poco conocidos para que pueda afirmarse si hay probabilidad de que la Filaria se aclimate en la vertiente occidental de las Cordilleras.

Filaria sanguinis hominis Lewis, 1872.

En la edad adulta este Verme vive en las cavidades del corazón, así como en los vasos sanguíneos y linfáticos; su estructura es bastante bien conocida gracias á las observaciones de P. S. de Magalhães.

El macho, de aspecto capilar y blanco opalino, tiene 83 mm. de largo. Su extremidad anterior es redondeada; la boca es terminal, circular é inerme. La cola va adelgazándose; es obtusa y describe de una á dos vueltas de espiral; presenta cuatro pares de papilas delante del ano y otros cuatro detrás. La cloaca se abre á 0 mm. 11 de la extremidad. El tubo genital parece ser único. P. S. de Magalhães describe una sola espícula encorvada en forma de arco de círculo y rodeada de una vaina; por el contrario Bourne * y Sibthorpe † afirman haber observado dos espículas encorvadas sobre sí mismas.

La hembra tiene de 88 á 155 mm. de largo. Es vivípara; sin embargo á veces pone huevos desprovistos de cáscara y rodeados de un simple corión. Éstos miden de 18 á 25 μ por 12 á 15 μ; en el momento de la puesta, se hallan ya más ó menos segmentados; cuando el embrión es fácil de conocer en ellos, miden por término medio 37 μ por 30 μ. El curso de la linfa los arrastra

* A. G. Bourne, *A note on Filaria sanguinis hominis, with a description of a male specimen.* British Medical Journal, I, p. 1050, 1888.

† Sibthorpe, *On the adult male Filaria sanguinis hominis.* Ibidem, I, p. 1344, 1889.

y su desarrollo se continúa de paso. Los embriones se hallan enteramente formados y son desembarazados de su corión en el momento en que llegan á la vena cava superior, de donde van á esparcirse por todo el organismo; son lombricillas que tienen de 125 á 300 μ de largo y de 7 á 11 μ de ancho, y que están aún desprovistas de tubo digestivo y aparato reproductor.

La historia de estos embriones presenta una serie de particularidades biológicas del mayor interés; es justo recordar aquí que su descubrimiento se debe á Patrick Manson, d'Amoy.

Contra lo que era de esperar estos embriones no son visibles en la sangre á toda hora del día; no invaden la circulación periférica sino durante el sueño; cada gotita de sangre extraida de un punto cualquiera del cuerpo, dedo, lóbulo de la oreja, etc. contiene entonces mayor ó menor número, de suerte que la red vascular se muestra invadida toda entera. Durante la vigilia desaparecen totalmente de la circulación periférica, acumulándose entonces en los grandes vasos del tórax y del abdomen. Si es cierto, como se ha dicho, que el sueño es causado por el almacenamiento, en el organismo, de principios tóxicos, que resultan de la actividad fisiológica de los tejidos y de los órganos, este hecho nos da la explicación natural de la singular emigración que se observa en todos los climas, hasta cuando intencionalmente se truecan las horas del sueño y de la vigilia.

De la sangre pasan los embriones en gran número á la orina, á las lágrimas, á las secreciones de las glándulas de Meibom, y á ciertos derrames serosos y quilosos.*

* Demarquay, cirujano entonces en la Casa municipal de Salud, en París, los descubrió á fines de agosto de 1863, en el líquido lechoso extraido por punción de un tumor de las bolsas, en un joven originario de

Por la orina llegan fácilmente hasta el agua, y pudiera suponerse que así se realiza la emigración necesaria á su desarrollo. Sin embargo las cosas pasan de muy distinta manera. En efecto Manson ha demostrado por medio de ingeniosos experimentos que el embrión era tomado directamente en los vasos sangíneos por un animal en el que debía pasar su estado larvario, y que este huésped intermedio no era otro que el Mosquito. Ahora bien el Insecto acude á picar al enfermo durante el sueño, es decir, en el momento preciso en que los embriones son accesibles á su aguijón.

La hembra del Mosquito posee sola un aparato bucal bastante poderoso para perforar la piel humana; el macho, menos fuertemente armado, es incapaz de hartarse de sangre, y esto es una circunstancia feliz, desde el punto de vista de la propagación de la Filaria; porque todas las larvas desarrolladas en el estómago del macho estarían destinadas á una destrucción segura.

Al mismo tiempo que se harta de sangre, el Mosquito traga cierto número de embriones. Cansado por el peso del abdomen dilatado, é incapaz de sostener un vuelo prolongado, va á fijarse cerca de un agua estancada y allí queda como adormecido; digiere la sangre que ha chupado y madura sus huevos. Sin embargo los embriones ingeridos en número excesivo mueren en su mayor parte. Los sobrevivientes suben á la porción torácica del tubo digestivo del Insecto, donde experimentan una serie de modificaciones que cambian pro-

la Habana. El 4 de agosto de 1866, Wucherer lo volvió á hallar en los orines de un enfermo atacado de quiluria tropical. La mayor parte de los autores omiten citar la observación de Demarquay y atribuyen á Wucherer el mérito de haber descubierto el parásito; pero esta pretenión es injustificable.

fundamente su aspecto y los llevan progresivamente al estado larvario, sin que haya muda propiamente hablando. De 130 á 156 horas, es decir al sexto ó séptimo día después de su permanencia en el Mosquito, los Vermes jóvenes tienen 1 mm. 50 de largo por 0 mm. 25 de ancho.

En este intermedio el Mosquito pone, después cae al agua y muere. La larva devora los órganos torácicos de su huésped, después abandona el cadáver y continúa viviendo en el agua, esperando que se presenten condiciones favorables á su desarrollo ulterior. Estas condiciones no se encuentran realizadas, sino cuando es ingerido con el agua por el Hombre ó por un animal en que pueda vivir.

Por lo tanto se adquiere el parásito bebiendo sin filtrarla ó hacerla hervir el agua en que nadan las larvas. Se ignora aún lo que es de ellas una vez introducidas en el intestino; no se sabe en qué punto se hacen adultas y se acoplan, ni por qué camino llegan al corazón y á los grandes vasos. Se sabe por lo menos que los adultos viven en la linfa y en la sangre, según lo hemos dicho ya más arriba.

La Filaria de la sangre es un parásito muy terrible: produce estados mórbidos muy variados, tales como la elefantiasis de los Árabes, los tumores linfáticos del escroto, los abcesos linfáticos de los miembros, la hematuría intertropical, la hematoquiluria, la ascitis quilosa, etc. Mientras su origen ha permanecido ignorado, se han considerado estas diversas manifestaciones patológicas como otras tantas entidades mórbidas; ahora se sabe que son estados y síntomas diversos de una sola y misma enfermedad, la *filariosa*.

Ésta se extiende por una muy gran parte de la zona

intertropical y aun más allá, es sobre todo frecuente en las Indias, en China y en el Brasil. Nada sabemos aún de su existencia en la costa occidental de la América del sur; es probable que se encuentre por allí y que no pase más allá de Bolivia.

RHABDONEMA INTESTINALE R. Blanchard, 1885.

Las generaciones sucesivas de este Verme se presentan alternativamente bajo dos formas distintas, que Bavay, que las ha descrito en 1877, consideraba como dos especies distintas y describía con los nombres de *Anguillula stercoralis* y *A. intestinalis*. Ahora se sabe que son dos formas adultas que se engendran recíprocamente de una sola y misma especie, que presenta de este modo un curioso ejemplo de dimorfismo.

La *Anguillula intestinalis* (Fig. 45) se mantiene en el duodeno y el yeyuno; tiene 2 mm. 20 de largo y de 0 mm. 035 á 0 mm. 040 de ancho; tiene el aspecto de una Filaria ó de un Estronglo. Á veces todos los individuos en número inmenso que se encuentran en el intestino del Hombre son hembras capaces de reproducirse por partenogénesis. * La vulva se abre en el tercio posterior del cuerpo. El útero contiene cinco ó seis huevos de un amarillo verdoso, elipsoides que miden de 50 á 58 μ de largo y de 30 á 34 μ de ancho. En el momento de la puesta, la segmentación del vitellus está ya comenzada, y se termina rápidamente. Los embriones salen á luz en el intestino; tienen de 0 mm. 20 á 0 mm. 24 de largo y 0 mm. 012 de ancho; hasta pueden pasar al estado larvario antes de ser evacuados, ó por lo menos

* G. Rovelli, *Ricerche sugli organi genitali degli Strongyloides* (*Anguillula, Rhabdonema*). Como, in 4º de 12 p., 1888.

realizan su primera metamórfosis tan pronto como salen fuera.

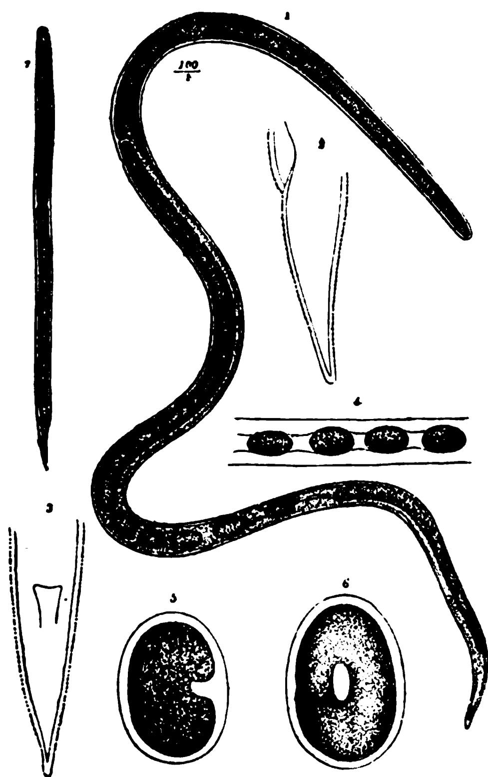


Fig. 45.—*Anguillula intestinalis*, según Bavay.—1, hembra adulta agrandada 100 veces; 2, coda vista de perfil; 3, coda vista por la cara ventral; 4, trozo del cuerpo con huevos; 5, huevo conteniente un embrión en vía de formación; 6, el mismo mas desarrollado; 7, larva estronguiloídea proveniente de la *Anguillula stercoralis* y transformándose en *Anguillula intestinalis.*

La larva tiene de 0 mm. 45 á 0 mm. 60 de largo y de 16 á 20 μ de ancho (Fig. 46, 1); presenta el carácter de

Rhabditis, es decir que su esófago comprende tres porciones dispuestas como en la larva de la *Uncinaria*. Si la temperatura no es favorable ó si las deyecciones se secan demasiado rápidamente, la larva muda y se envuelve en su viejo tegumento como en un quisto, entre tanto que se presentan condiciones mejores. Si éstas se realizan continúa su evolución, crece y después muda al cabo de 15 á 18 horas. Esta muda es la señal de su paso al estado adulto, es decir al estado de *Anguillula stercoralis*.

Al revés de lo que se observaba en cuanto á la generación precedente, se distinguen aquí los dos sexos; sin embargo las hembras son casi ocho veces más numerosas que los machos. Hacia la trigésima hora después de la evacuación, en las circunstancias más favorables, la mayor parte de las larvas han llegado al estado adulto; muchas hasta se han acoplado.

El macho (Fig. 46, 4) tiene una longitud media de 0 mm. 7 y una anchura de 35 á 40 μ; su extremidad posterior tiene la forma de un ganchito corto y enrollado, en cuya base se abre la cloaca. Delante de ésta se ven dos ó tres pequeñas papilas; las dos espículas forman con frecuencia saliente entre sus labios.

La hembra (Fig. 46, 3; Fig. 47, B) tiene de 1 mm. á 1 mm. 2 de larga y de 50 á 75 μ de ancho; se estira hacia atrás formando una punta delgada y filiforme ligeramente contorneada en forma de espiral. El ano (Fig. 46, 3, *g*; Fig. 47, B, *a*) se abre en la base de la cola ó rabo. La vulva (Fig. 46, 3, *h*; Fig. 47, B, *v*) se abre un poco detrás de la mitad del cuerpo; comunica con dos úteros. El huevo (Fig. 45, 5) mide 70 μ por 45; es elíptico, de cáscara delicada y casi enteramente desprovisto de granulación.

En ambos sexos la extremidad anterior es redondeada y está perforada por un simple orificio, en torno del cual forma la cutícula cuatro ligeros espesores; un corto vestíbulo en forma de embudo la pone en comunicación con el esófago; éste es rabditoídeo como en la larva; su

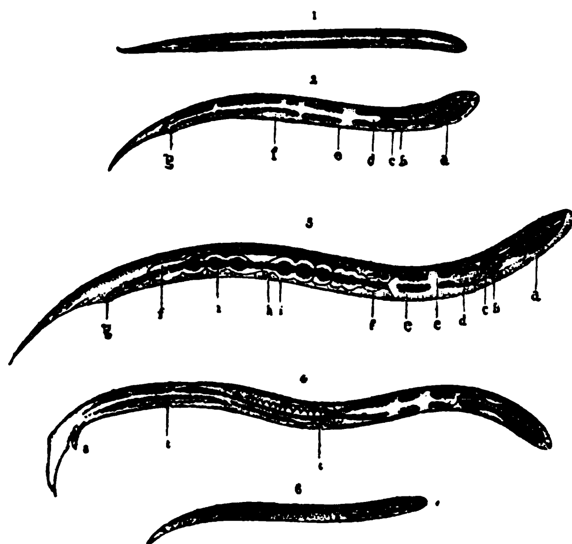


Fig. 46.—*Anguillula stercoralis* según Bavay.—1, joven larva rabditoídea; 2, larva rabditoídea de más edad; 3, hembra adulta; 4, macho adulto; 5, huevo que contiene un embrión; 6, larva joven estronguiloídea, que debe transformarse en *Anguillula intestinalis*; 7, aparato copulador del macho (*a*, pieza accesoria); *a*, *b*, *c*, esófago; *d*, *e*, intestino; *f*, rudimento de las glándulas genitales; *g*, ano; *h*, vulva; *i*, útero; *s*, espícula; *t*, testículo.

dilatación porterior contiene un aparato de trituración constituido por tres dientes quitinosos dispuestos en Y. El intestino está tapizado de células aplastadas dispuestas en dos series alternativas, habiendo de 16 á 18 μ á cada lado.

Los Vermes adultos cuyo desarrollo acabamos de estudiar representan la antigua especie *Anguillula*

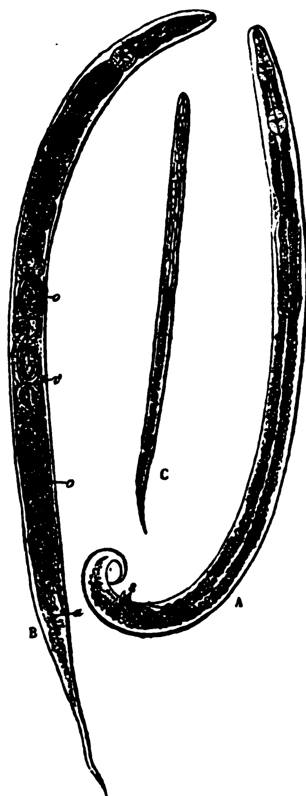


Fig. 47.—*Anguillula stercoralis* según Perroncito.—A, macho; B, hembra; C, larva estronguiloídea que debe transformarse en *Anguillula intestinalis; a,* ano; *o,* útero lleno de huevos; *s,* espículas; *v,* vulva.

stercoralis. No se les encuentra nunca en las deposiciones y su evolución se termina en el exterior; sin

embargo puede encontrárselos en el intestino de los cadáveres, cuando la autopsia se hace con retraso.

Los huevos se acumulan en muy gran número en el útero; la segmentación se halla ya muy adelantada cuando son puestos; el desarrollo embrionario puede hasta realizarse por completo en el útero, lo que no exige más de veinte y cuatro horas. El embrión que acaba de salir á luz no tiene mas que 0 mm. 22 de longitud; excepto en su forma más esbelta, tiene la mayor semejanza con la larva rabditoídea de la generación precedente.

Cuando ha llegado á una longitud media de 0 mm. 55, el embrión experimenta una muda y se transforma en una larva estronguiloídea ó filariforme, cuyo esófago muy alargado, *d*, tiene por todas partes el mismo calibre (Fig. 46, 6; Fig. 47, C). Esta larva cesa en adelante de alimentarse; no crece más y muere al cabo de pocos días, si se prolonga su permanencia en las deyecciones ó en el agua fangosa. Es evidente que este medio, en el que, sin embargo, se ha desarrollado, no le conviene ya y que no está organizada para vivir más largo tiempo vida de libertad.

En efecto ella debe reproducir la forma *Anguillula intestinalis*, cuando se encuentra introducida en el tubo digestivo del Hombre en las circunstancias que hemos enunciado anteriormente, al hablar de la *Uncinaria duodenalis*.

La prueba experimental nos es suministrada por Calandruccio que, ingiriendo un gran número de larvas filariformes obtenidas por el cultivo, encontró en sus deyecciones, al cabo de un mes, raros embriones rabditoídeos.

Además del modo de desarrollo que acabamos de

describir, el *Rhabdonema intestinale* puede propagarse también de otra manera que consiste en que la larva estronguiloídea puede provenir directamente de la larva rabditoídea, hija de la *Anguillula intestinalis.* Esta larva estronguiloídea desarrollada directamente es idéntica á la que se ha desarrollado indirectamente, es decir que es nieta de la Anguílula intestinal é hija de la Anguílula estercoral. Débese, pues, deducir de aquí que cada una de estas dos larvas, después de haber llegado al límite de su crecimiento, es capaz de transformarse en Anguílula intestinal, si se ve introducida en el intestino del Hombre. Ciertos observadores hasta piensan que la transmisión del parásito se verifica lo más frecuentemente por medio de las larvas estronguiloídeas desarrolladas directamente. Según ellos la Anguílula estercoral no sería pues necesaria para perpetuar la Anguílula intestinal.

Este parásito ha sido descubierto por Normand, en 1876, en soldados que volvían de Cochinchina y estaban atacados de disentería grave. Habiéndose observado un gran número de casos análogos, se creyó en un principio que el animálculo era la causa de la diarrea endémica de los países cálidos y especialmente de la diarrea de Cochinchina.

Actualmente se ha reconocido que esto no es exacto y se admite más bien que la enfermedad preexiste y crea en el intestino un medio favorable al parásito, que llevado allí con aguas de mala calidad, se fija y termina su desarrollo. El Verme puede, por otra parte, complicar y agravar el estado general manteniendo el catarro de la mucosa é impidiendo á ésta volver á su estado normal.

El *Rhabdonema* vive y se desarrolla en estado libre

en las mismas condiciones que la *Uncinaria* ; por eso estos dos parásitos tienen poco más ó menos la misma distribución geográfica y se les ve con frecuencia coexistir en el mismo individuo.

El *Rh. longum* Grassi vive en el Carnero, pero no parece causar ningún accidente especial; se le encuentra en Italia. Una especie vecina, el *Rh. suis* Lutz, se ve en el Brasil en el Cerdo. Estas dos especies presentan sensiblemente las mismas particularidades biológicas que el *Rh. intestinale* del Hombre; su modo de propagación es verosímilmente el mismo.

Rhabditis pellio Bütschli, 1873.

El Verme de que se trata aquí no es nunca parásito; vive normalmente en la tierra húmeda y en las sustancias orgánicas en descomposición. La observación que vamos á citar merece sin embargo que la mencionemos aquí porque nos suministra uno de los más curiosos ejemplos de pseudoparasitismo.

En Stuhlweissenburg, en Hungría, una mujer atacada de nefritis intersticial evacuaba una orina purulenta en la que se distinguía un número considerable de Vermes de 1 mm. de largos próximamente, en todos los estados de su desarrollo. Los unos habían ya muerto en el momento de orinar; los sobrevivientes no tardaban en perecer en la orina.

Scheiber, al que se debe esta observación, reconoció que no se trataba de un parásito intestinal ó vesical. El Verme había sido llevado casualmente al nivel de la vulva ya por el agua que había servido para abluciones,

ya por la tierra aplicada á las nalgas.* Se había reproducido á la entrada de la vagina y, cada vez que la paciente orinaba, aparecían gran número de individuos que habían sido arrastrados fuera por la orina.

* Los aldeanos de Hungría atribuyen á la tierra aplicada sobre la piel diversas propiedades medicinales.

CAPÍTULO VI.

GORDIANOS.

ESTOS Nematohelmintos viven en edad adulta en las aguas dulces, especialmente en los torrentes y arroyos de las montañas. Su desarrollo se verifica por medio de metamórfosis y de emigraciones bastante complicadas que debemos limitarnos á resumir muy brevemente.

El huevo es puesto en el agua; de él sale un embrión que penetra en el cuerpo de una larva de Díptero. Esta es tragada por un Pez, y probablemente también por animales de cualquiera otra naturaleza. El embrión puesto en libertad se enquista en la mucosa intestinal de su nuevo huésped; después pasa al estado larvario. Al cabo de varios meses, la larva cae en el intestino y es evacuada en las deyecciones. Entonces sufre su última metamórfosis, crece rapidamente y se hace adulta.

En el momento en que abandona su último huésped, la larva es aún muy pequeña y se distingue dificilmente en el agua. Puede pues suceder que sea arrastrada por el agua al tubo digestivo del Hombre ó de un animal que vaya á apagar su sed en los arroyos de las montañas; un cierto número de hechos prueban que en estas condiciones anormales la larva puede continuar sin embargo su evolución y llegar al estado adulto y sexual. Se conocen, en efecto, algunas observaciones auténticas de Gordio, evacuadas por individuos de diversas edades, observaciones que sólo tienen explicación plausible dada la anterior hipotesis. Por otra parte es dificil admitir

que se pueda tragar inconscientemente el Verme adulto, que mide varios decímetros de longitud.

Los Gordianos se observan frecuentemente en los Insectos de diversos órdenes; no son raros tampoco entre los Vertebrados de temperatura variable (Peces, Batracios). Fedtchenko ha hallado, en una Avutarda del Turkestán (*Otis Mac Quini*), dos machos de *G. stylosus* von Linstow.* Por último se conocen actualmente diversos casos de pseudoparasitismo en la especie humana; estos casos que hemos citado en otro lugar † son relativos á *G. aquaticus* Dujardin, *G. tolosanus* Dujardin y *G. varius* Leidy.

Á estas observaciones ha venido á agregarse recientemente otra debida á Cerruti.‡ En una aldea del alto Piamonte, no lejos de Biella, un muchacho de siete años fué acometido de fuertes dolores de estómago que le obligaron á quedarse en cama un día entero; al día siguiente vomitó mucosidades abundantes, en medio de las cuales se hallaba una hembra de *G. aquaticus* (*G. Villoti* Rosa) de 0 m. 19 de larga y de un milímetro de ancha: los dolores no se renovaron más.

Camerano § dice haber recibido de Paveri dos *Gor-*

* A. P. Fedtchenko, *Viaje en el Turkestan. Nemátodos y Tremátodos*, por O. von Linstow. Diario de la Sociedad imperial de los amigos de las ciencias naturales . . . en Moscov, XXXIV, cuaderno 2, 1886 (en ruso). Véase pag. 33, nº 64.

† *Traité de zoologie médicale*, II, p. 89-91, y articulo *Vers*, pag. 39-41, del Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales.

‡ G. B. Cerruti e L. Camerano, *Di un nuovo caso di parassitismo di Gordius adulto nell' uomo.* Giornale dell' Accad. di med. di Torino, 1888.

§ L. Camerano, *Ricerche intorno al parassitismo ed al polimorfismo dei Gordii.* Memorie dell' Accad. delle scienze di Torino, (2), XXXVIII, 1887.

dius encontrados en el hospital de Brescia en diciembre de 1874, sobre la mesa en que descansaba un cadáver cuya autopsia se estaba haciendo; tratábase de un macho y una hembra de *G. aquaticus* (*G. Villoti*) y de un macho de *G. tolosanus*. Al mismo tiempo que mencionamos aquí esta observación, debemos hacer, á propósito de ella, las más expresas reservas; nada prueba en efecto que los dos Vermes hubiesen habitado anteriormente en el intestino del cadáver. Tal vez provenían sencillamente del agua que servía para las abluciones. La mayor parte de los casos observados de *Gordius* en el Hombre han sido hallados en la Europa occidental; el caso relativo á *G. varius* ha sido, sin embargo, observado en los Estados Unidos, en el Ohio. En Chile, el pseudoparasitismo de *Gordius* parece igualmente conocido, según atestigua al menos Cl. Gay.* En efecto este célebre autor se expresa en los siguientes términos á propósito del *G. chilensis* Em. Blanchard: " Los Indios lo temen mucho y creen que si se introduce en su cuerpo les ocasiona graves enfermedades ".

* Cl. Gay, *Historia física y política de Chile. Zoología*, III, p. 109.

CAPÍTULO VII.

ANÉLIDOS.

GRAN número de Anélidos viven en las aguas dulces. Si éstas son utilizables como bebida ó sirven para las abluciones, podrán por consiguiente llevar al tubo digestivo ó á la superficie del cuerpo alguna especie animal cuya presencia no tardará en manifestarse por medio de accidentes más ó menos graves; parécenos útil consignar aquí algunos ejemplos de este género.

La Sanguijuela del Caballo (*Hirudo sanguisuga*) es muy común en España, Portugal y en el Norte del África. Sus débiles mandíbulas no le permiten sino con gran trabajo perforar la piel de los Mamíferos; así es que ataca con preferencia las membranas mucosas y tiene gran tendencia á introducirse en el fondo de la boca, laringe y fosas nasales de los Caballos, Bueyes, Camellos y otros animales que acuden al abrevadero. El Hombre mismo no se ve libre de ella: durante la campaña de Egipto en 1799 y durante la de España y de Portugal, los soldados franceses se echaban de bruces para beber en los arroyos; su boca y sus amígdalas eran con frecuencia picadas por esta Sanguijuela. Basta examinar la constitución de su ventosa bucal y de las tres mandíbulas que en ella se encuentran ocultas (Fig. 48, 49 y 50) para comprender hasta que punto la mordedura del Verme producida en estas condiciones puede ser peligrosa.

Aun ahora son muy comunes los accidentes de este

género en Argelia y Túnez: Villard,* Baizeau,† Masse,‡ Félix Kaddour § y Blaise ‖ han citado casos, tanto en el Hombre como en el Caballo. De 1874 á 1880, Devoisins ¶ los ha observado con mucha frecuencia en Misserghin, cerca de Oran: "Las Sanguijuelas, dice,

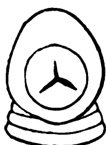


Fig. 48.—Ventosa bucal de *Hirudo medicinalis*.



Fig. 49.—La misma abierta para mostras las tres mandíbulas.



Fig. 50.—Mandíbula aislada y agrandada.

que sacábamos de la boca de los indígenas bastaban ampliamente á las necesidades de la práctica corriente". Hechos análogos han sido señalados además en Sicilia,

* Villard, *Expulsion d'une Sangsue introduite dans le pharynx.* Gazette méd. de Lyon, XIV, p. 50, 1862.

† Baizeau, *Das accidents produits par des Sangsues avalées et de leur fréquence en Algérie.* Archives gén. de médecine, (6), II, p. 161, 1863.

‡ Masse, *Accidents causés par l'ingestion de Sangsues filiformes.* Abeille médicale, XXXVIII, p. 337, 1881.

§ F. Kaddour, *Des accidents causés par l'Haemopis ou Sangsue de Cheval en Tunisie.* Journal des sciences méd. de Lille, I, p. 121, 1888.—Id., *La Sangsue de Cheval en Tunisie.* Bull. de la Soc. des sciences phys., nat. et climatol. de l'Algérie, XXV, p. 75, 1888.

‖ Blaise, *La Sangsue de Cheval en Algérie.* Ibidem, p. 137, 1888.

¶ A. J. Devoisins, *Dictionnaire pratique des premiers secours à donner en cas d'accidents.* Paris, in 8º de 163 p., 1890. Véase p. 148.

y en el Mediodía de Francia por Clementi * y Calandruccio. †

Concíbese, por otra parte, que la Sanguijuela de Caballo no sea la única Hirudínea capaz de producir semejantes daños y que no sean los solos órganos atacados de esta suerte la boca ó la faringe. El caso de Masse ‡ se refiere en efecto á Sanguijuelas filiformes. Una especie análoga, si no idéntica, abundaba en el agua de que hacía uso una columna acampada en Chellala, en el sudoeste del departamento de Alger. Un zuavo experimentaba desde hacía algunos días una sensación de cuerpo extraño: en el saco conjuntival del ojo izquierdo se encontraba una Sanguijuela; ésta fué sin duda puesta en contacto con el ojo por el agua de las abluciones. De la misma manera el médico tiene á veces ocasión, en Argelia, de observar individuos en cuyo recto, vagina, ó uretra se han introducido Sanguijuelas durante el baño.

Los Oligoquetas nos ofrecen también algunos ejemplos de pseudoparasitismo que corresponden á la categoría precedente.

En 1839, Curling ha descrito con el nombre de *Dactylius aculeatus* un Verme que había sido evacuado en distintas veces al mismo tiempo que la orina por una niñita de 5 años. Este Verme fué identificado más

* G. Clementi, *Caso rarissimo di una Sanguisuga, adesa allo interno della glottide e della trachea, segnalata dal laringoscopio e felicemente estratta.* Gazzetta med. italiana, provincie venete, XVII, p. 381, 1874.

† Calandruccio (*loco citato*, p. 38) refiere una nueva observación de Clementi; F. Pettinato de Troina le ha asegurado haber observado un término medio anual de cuatro casos de Sanguijuelas fijadas en la faringe, durante sus veinte y ocho años de práctica médica, ó sea un total de más de 100 casos.

‡ *Loco citato* pág. 494.

tarde con el *Enchytraeus albidus*, pequeño Anélido que vive normalmente en las hojas podridas ó en las aguas fangosas. Como en el caso del *Rhabditis pellio*, estos animales habían debido ser llevados por una maniobra al nivel de la vulva.

Una especie vecina, *Enchytraeus Buchholzi*, ha sido señalada por R. Bergh, de Copenhagüe, en circunstancias no menos curiosas. Una aldeana de 29 años, llegada al fin de una segunda preñez, arrojó por la boca cierto número de Vermes. Estos habían sido llevados al estómago por aguas de mala calidad, cuya ingestión se explica tal vez por una perversión del gusto originada por el estado de gestación.

CAPÍTULO VIII.

LINGUÁTULAS.

No sin cierta vacilación agregamos á nuestro estudio la historia de las Linguátulas. No ignoramos que la transmisión de estos parásitos, ó mejor dicho de sus huevos, se verifica habitualmente sin que el agua les sirva de vehículo; nos parece sin embargo que los casos numerosos en que ha sido observada la larva en el Hombre no pueden explicarse sino admitiendo el transporte del huevo por el agua.

Linguatula rhinaria Pilger es la especie más conocida y la que más frecuentemente se observa en el Hombre. En estado adulto, este animal vive en las fosas nasales y sinus frontales ó maxilares del Perro y del Lobo, más rara vez del Caballo, Mulo y Cabra, y excepcionalmente en las fosas nasales del Hombre. Los animales que albergan este parásito tienen frecuentes epistaxis; estornudan con frecuencia y mana de su nariz un moco lleno de huevos que se esparcen al azar, por ejemplo, sobre las plantas. Si éstas son ingeridas por un herbívoro como la Liebre, el Conejo ó el Carnero, el huevo se abre en el estómago y da paso á un embrión que va pronto á fijarse en el hígado ó en algún otro órgano. El Hombre podrá infestarse de esta misma manera, pero es probable que esta vez aún sea el agua el principal agente de la transmisión del parásito.

El desarrollo del embrión está ya terminado cuando el huevo es puesto. Este mide 90 μ de largo por 70 μ

de ancho; está rodeado de dos envolturas, una interna homogénea y resistente, y otra externa, más espesa, granulosa y extensible. El embrión es oval de 75 μ de largo y 50 μ de ancho. Su extremidad anterior presenta una boca abierta, á la que va anejo un aparato destinado á facilitar las emigraciones; la extremidad posterior lleva una larga cola, replegada bajo la faz ventral y adornada de diez sedas. El medio de la faz dorsal lleva una fosilla ahuecada delante de la que se ven dos estigmas. Por último se observan en los costados de la faz ventral dos pares de apéndices en forma de muñón, de 7 μ de largo, no segmentados, bordeados de un fuerte anillo quitinoso y que llevan cada uno un par de uñas de 3 μ 5 de largo.

En este estado cae el huevo en el suelo y puede permanecer largo tiempo en estado de vida latente, ya en seco ya en el agua. Cuando es introducido por casualidad en el tubo digestivo de un animal apropiado, el embrión abandona su envoltura protectora, atraviesa la pared del intestino y va á fijarse en el hígado ó en el pulmón. Allí continúa lentamente su evolución y no experimenta menos de nueve mudas, que exigen cerca de veinte y tres semanas, y después de cada una de ellas su estructura se modifica notablemente. Terminadas éstas, la larva no experimenta ya ninguna modificación; es incapaz de desarrollarse más sin cambiar de medio.

Por la misma razón que ha hecho dar nombres particulares á las larvas de las Tenias, la larva de la Linguátula es designada comunmente con los nombres de *Linguatula serrata* Frölich, 1789, y de *Pentastoma denticulatum* Rudolphi, 1819. Es lanceolada, tiene de 4 á 5 mm. de largo y cuando más, 1 mm. 2 de ancho, y está formada de cerca de 80 anillos, cuyo borde posterior

está adornado de una fila de espículas quitinosas con la punta vuelta hacia atrás. En la parte anterior de la faz ventral presenta además una boca abierta y á cada lado de ésta un par de patas rudimentarias, terminada cada una por un ganchito fuerte, y ocultas en el fondo de una depresión profunda.

La *Linguatula serrata* se observa frecuentemente en el hígado y el pulmón de la Cabra, Liebre, Carnero y de otros varios herbívoros (Buey, Dromedario, Antílope, Caballo); se la ha visto también en el León, en el Gato y en el Hombre. No es raro encontrarla en éste último en Alemania, Suiza, Rusia y Austria; no se la ha observado aún, en la especie humana, en Francia ni en el resto de Europa.

Si el animal que alberga el parásito llega á ser la presa de un carnívoro tal como el Perro ó el Lobo, la Linguátula sufre una última metamórfosis y pasa al estado adulto, es decir al estado de *Linguatula rhinaria.* Sin que pueda explicarse aún de una manera satisfactoria cómo se realiza esta emigración, llega hasta las fosas nasales de su nuevo huésped, muda y crece bastante notablemente. Entonces es un animal aplastado, lanceolado, adelgazado hacia atrás, redondeado por delante con tegumento liso y sin espículas. El macho no tiene más de 16 á 18 mm. de longitud, pero la hembra llega á tener de 60 á 85 mm. Los órganos genitales terminan su desarrollo; después tiene lugar el acoplamiento y empieza la puesta de huevos.

En su cualidad de omnívoro, el Hombre tiene el triste privilegio de dar asilo casi con igual facilidad á los parásitos de los herbívoros y á los de los carnívoros. De esta suerte presenta un terreno favorable no sólo al estado larvario, sino también al estado adulto de la

Linguátula. Podrían citarse, por otra parte, muchos ejemplos poco probatorios, de enfermos curados de epistaxis persistentes después de haber evacuado por las narices Vermes que podían ser Linguátulas; pero, por lo menos, en este punto tenemos una observación reciente debida á Laudon y cuya autenticidad no es dudosa.

Se relacionan con la *Linguatula constricta* von Siebold, especie poco conocida aún, ciertos casos en que la larva ha sido encontrada en el hígado por Pruner y Bilharz, en los negros del Cairo. Verosimilmente se trata también de otras especies en las observaciones hechas por Welch en un soldado que volvía recientemente de las Indias, y por Kearney y Crawford en dos soldados del ejército colonial inglés, muertos uno en Jamaica y otro en Bathurst (Gambia).

CONCLUSIONES.

CREEMOS haber demostrado, con exceso, en este largo trabajo que el agua puede contener, en un estado muy variable de su desarrollo, un gran número de séres que, introducidos en el organismo del Hombre ó del animal, son capaces de fijarse allí, continuando ó acabando sus evoluciones, y de producir accidentes ó desórdenes, á veces gravísimos. Nosotros hemos visto, por otra parte, que parásitos, que desde el primer momento eran incapaces de desarrollarse en el Hombre, pueden no obstante ser muy temibles para éste, al serle transmitidos por el primer huésped. Directa ó indirecta, primitiva ó secundariamente, el agua puede, pues, ser el manantial de varios parásitos, cuya acción perjudicial se desprende suficientemente de nuestro estudio.

No hemos citado aquí mas que los ejemplos más conocidos, y que interesan especialmente á la especie humana; los progresos incesantes de la ciencia, haciéndonos conocer mejor las emigraciones de los parásitos y revelándonos su modo de propagación, vienen cada día á demostrar que, desde este último punto de vista, las aguas desempeñan verdaderamente un papel primordial. La cuestión de las aguas potables es pues de un interés capital para el higienista; no hemos hecho otra cosa que dar de esto pruebas múltiples y variadas.

Si los procedimientos á que los parásitos recurren para asegurar su diseminación son exencialmente

diversos, las precauciones á que uno debe someterse para ponerse al abrigo de sus ataques son felizmente muy sencillas. Pueden resumirse en las proposiciones siguientes:

1º En general, un agua de río no puede servir para la alimentación ó los usos domésticos, sin previo examen microscópico, sino cuando es captada en el manantial mismo, lejos de toda habitación, de todo establo y de todo depósito de deyecciones humanas ó animales.

2º Si dicha agua ha de ser conducida lejos, debe circular en un sistema de canales metálicos ó de tierra barnizada, cuya perfecta impermeabilidad debe ser objeto de incesante vigilancia.

3º Toda agua de río, riachuelo, lago, pozo ó cisterna, por prescripción imperiosa de la higiene, debe examinarse microscópicamente, determinando los sedimentos y resíduo de la filtración y la naturaleza exacta y precisa de los organismos (huevos, embriones ó larvas libres, animales adultos) que viven en ella.

4º Según el resultado de este examen, el uso de dichas aguas podrá ser prohibido ó permitido.

5º Aun en este último caso, y con mayor razón en las circunstancias en que no se hubiese hecho el análisis microscópico, deberá uno limitarse á no hacer uso sino del agua filtrada.

6º Si esta operación no pudiera ejecutarse, es indispensable hacer hervir el agua de que se quiere hacer uso.

7º Sometiendo, ya á la ebullición, ya á la filtración, un agua, será seguramente inofensiva. Sin embargo la ebullición priva al agua de su oxígeno y la hace un poco más pesada.

FIN.

ÍNDICE.

ÍNDICE.

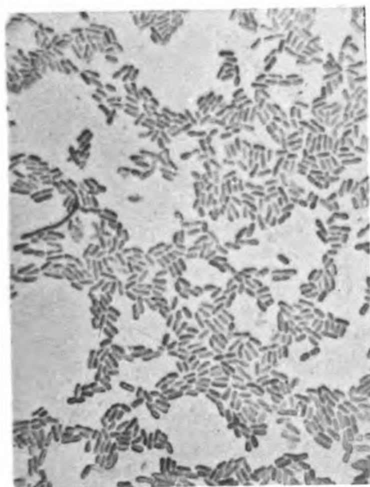
A.

B.

C.

F.

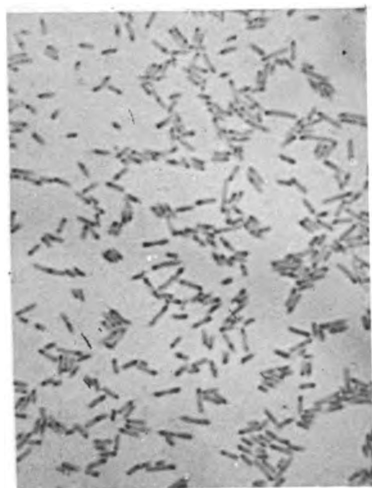
PLANCHA I



1



2

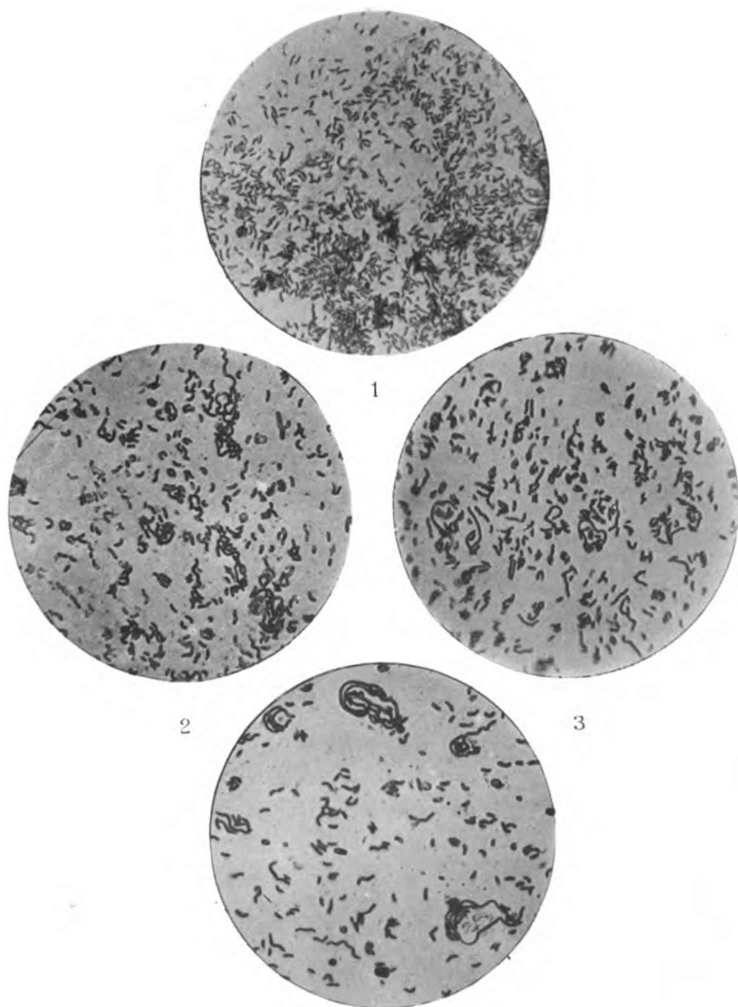


3

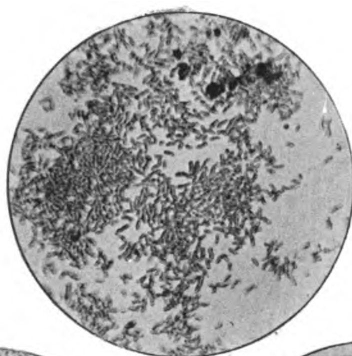


4

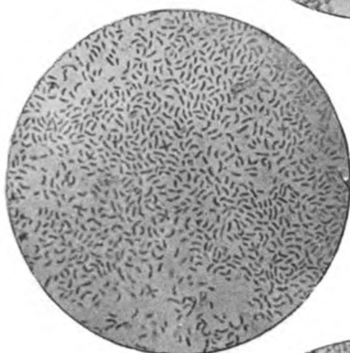
PLANCHA. II



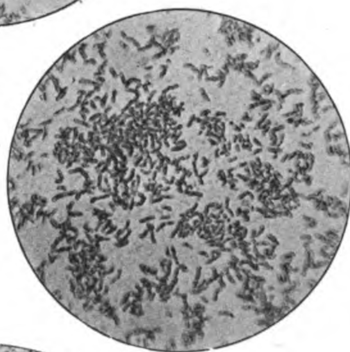
PLANCHA III



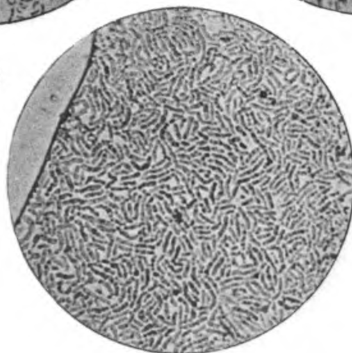
1



2

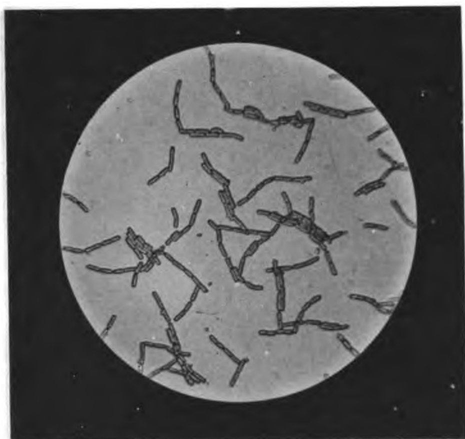


3



4

PLANCHA IV



1

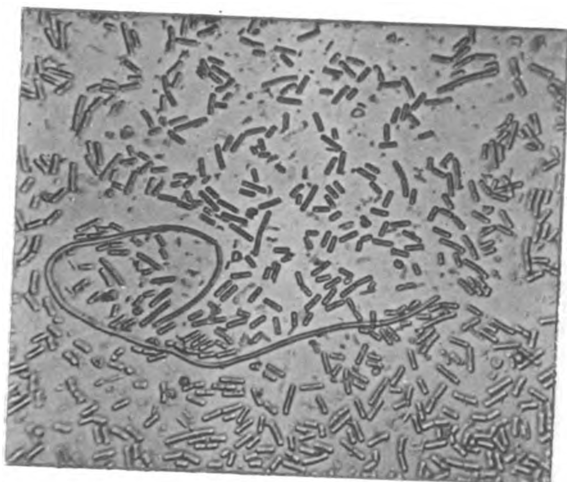


2

PLANCHA V

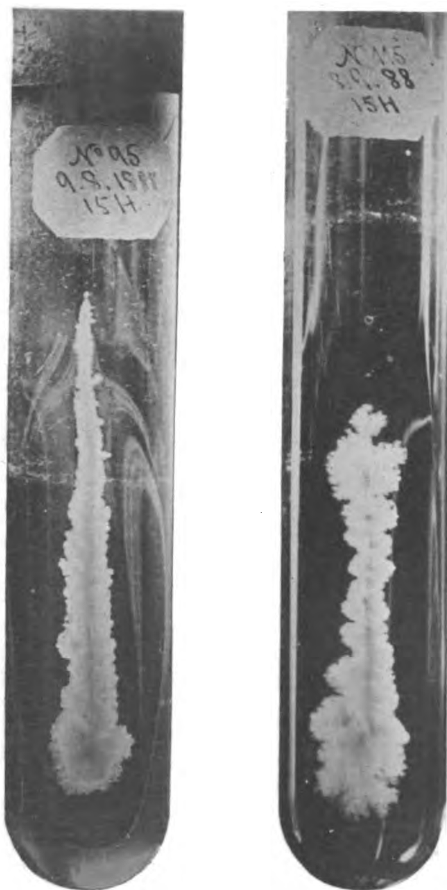


1

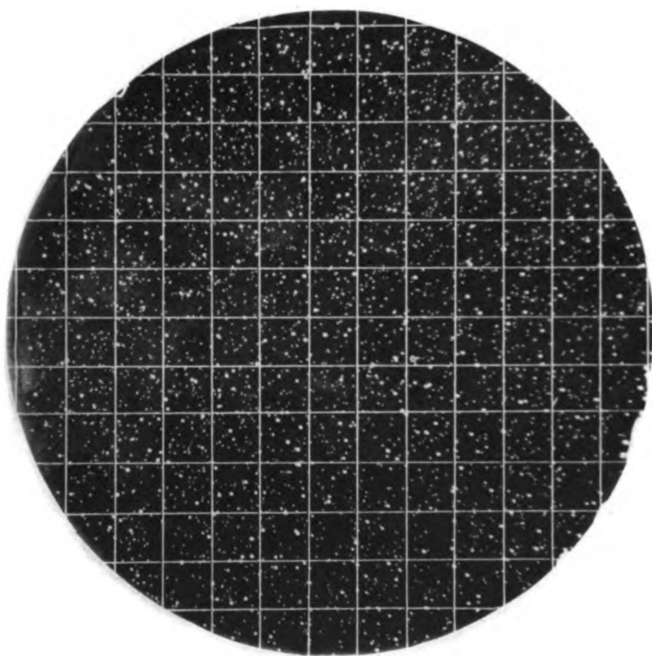


2

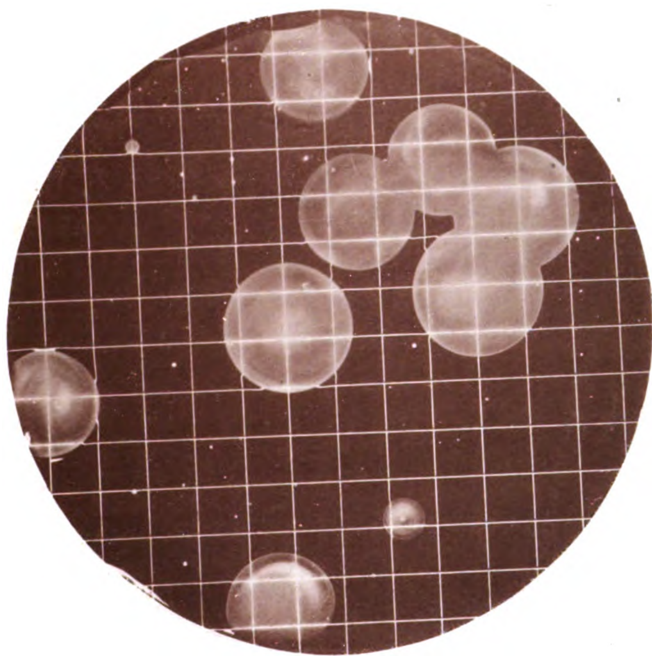
PLANCHA VI



PLANCHA VII



PLANCHA VIII



PLANCHA IX

